الفصل الخامس

تباينات المزارع

تمهيد

تعتبر مزارع الأنسجة النباتية فى الوقت الحاضر أحد المصادر الهامة للحصول على تباينات وراثية مفيدة. وقد أطلق على التباينات التى تظهر مع دورات زراعة الأنسجة اسم تباينات السلالات الجسمية somaclonal variation بواسطة Larkin & Scowcroft (١٩٨١)، وهى ظاهرة لها عيوبها، كما أن لها مزاياها. فبالنسبة للحالات التى يعد الثبات الوراثى فيها أمرًا حيويًا (كما فى الإكثار الدقيق، والهندسة الوراثية). فإن تباينات المزارع تعد مشكلة كبرى. ومن ناحية أخرى .. فإن تلك التباينات تعد مصدرا جديدا للاختلافات الوراثية التى قد تلعب دورًا فى تحسين النباتات.

قد تكون تباينات سلالات المزارع - الخضرية - somaclonal variations وراثية genetic أو ترجع لأسباب تتعلق بعملية الزراعة فى البيئة الصناعية epigenetic، وتعبر التغيرات الأخيرة عن ذاتها فى مرحلة النمو الخلوى، ولكنها تختفى — عادة — حين تجديد النمو النباتى منها، أو إكثارها جنسيًا.

يُشير مصطلح تباينات المزارع إلى التباينات التى تظهر فى مزارع الخلايا، وفى النباتات التى يتجدد نموها من المزارع وفى أنسالها.

هذا .. إلاّ أن نوعيات أخرى من التباينات تظهر فى مزارع خاصة للخلايا أو للأنسجة. وتتضمن ما يلى:

نوع المزرعة	كنية التباينات
البروتوبلاست protoplasts	Protoclonal
المتوك والخلايا الأمية للجاميطات anthers & microspores	Gametoclonal
الكالس callus	Callıclonal
الميرستم القمى apical meristem	Mericlonal
الأنسجة الجسمية كأنسجة الأوراق، والساق، والجذور ... إلخ.	Somaclonal

وتتعدد المسببات فى ظهور التباينات الوراثية لمزارع الأنسجة، ولعل أبرزها مجرد تعبير التباينات التى كانت موجودة أصلاً فى الأجزاء النباتية المزروعة explants عن ذاتها. إضافة إلى ظهور التحورات الكروموسومية، وتنشيط ما يعرف باسم العناصر المتنقلة transposable elements، وهى التى تتحكم فى ظهور بعض الصفات

ومن أهم العوامل التى تتحكم فى معدل ظهور تباينات المزارع التركيب الوراثى للجزء النباتى المزروع explant، ونوع مزرعة الأنسجة، فبعض التراكيب الوراثية وحتى بعض الأنواع النباتية — تكون أكثر عرضة لظهور هذه التباينات فيها عن غيرها، كما أن المزارع التى يتجدد فيها النمو (أى يحدث فيها regeneration) من نسيج كالس callus tissue تعد مصدرًا دائمًا للتباينات الوراثية الجديدة. وغالبًا ما تكون تلك التباينات ثابتة ويستمر ظهورها جيلاً بعد جيل

ويتم تحفيز حدوث تباينات المزارع والتعرف عليها، كما يلى:

١ — زراعة الكالس أو معلق الخلايا لعدة دورات.

٢ - تجديد النمو النباتى من تلك المزارع القديمة.

٣ -- التقييم للصفات المرغوب فيها فى النباتات التى يتجدد نموها وفى أنسالها

يمكن الانتخاب فى المزارع ذاتها للتباينات الخاصه بتحمل ظروف الشدّ البيئى والحيوى، باستعمال مستويات سامة من سموم مسببات الأمراض، ومبيدات الحشائش، والأملاح إلخ.

٤ — اختبار التباينات المنتخبة فى الأجيال التالية.

٥ — إكثار التباينات المنتخبة التى تبقى ثابتة وراثيًا، لأجل إنتاج سلالات تربية جديدة (عن Brar & Jain ١٩٩٨).

إن أكثر الاستراتيجيات نجاحًا فى عملية الانتخاب للمقاومة للأمراض فى المزارع هى التى تجرى باستعمال إما سموم الكائنات الممرضة ذاتها، وإما الراشح النقى لمزارع تلك الكائنات هذا مع العلم بأن كثيرًا من الفطريات الاختيارية التطفل والبكتيريا الممرضة تنتج سموما ذات وزن جزئيى منخفض فى كل من المزارع والعائل ويستدل من إحداث

الكائن المرض لاصفرار أو تحلل فى عائل مصاب على إنتاجه لسموم تُحدث تلك الأغراض.

وحقيقة الأمر أن تباينات المزارع تُعد من الطفرات، ولا يمكن التحكم فى ظهور طفرات معينة دون غيرها، حيث يكون ظهورها عشوائيًّا، ويكون معظمها — مثل معظم الطفرات — بغير ذى جدوى اقتصادية. هذا .. إلاّ أن أهميتها فى مجال تحسين النباتات ترجع إلى السهولة التى تظهر بها تلك التباينات، والسهولة التى يمكن بها الانتخاب لبعضها فى المزارع (عن McCown ٢٠٠٣) كما سيأتى تفصيله فى هذا الفصل.

وللتدليل على أهمية مزارع الأنسجة كمصدر للتباينات الوراثية إذا أمكن الانتخاب بسهولة للصفات المرغوب فيها .. ذكر Chawla (٢٠٠٠) أنه أمكن الانتخاب لمستوى عال جدًّا من المقاومة للـ T-toxin الخاص بالفطر *Helminthosporium maydis* فى سلالات الذرة Tms — القابلة للإصابة بالفطر أصلاً — وذلك بإعادة زراعة مزارع الكالس المتحصل عليها من الأجنة — عدة مرات — على بيئة تحتوى على جرعة عالية غير مميتة من سُمِّ الفطر. وقد كانت النباتات التى حُصل عليها من تلك المزارع مقاومة تمامًا لسُمِّ الفطر، وانتقلت الصفة إلى نسل تلك النباتات.

ويبين شكل (٥-١) تخطيطًا لحث تكوين تباينات المزارع وانتخابها.

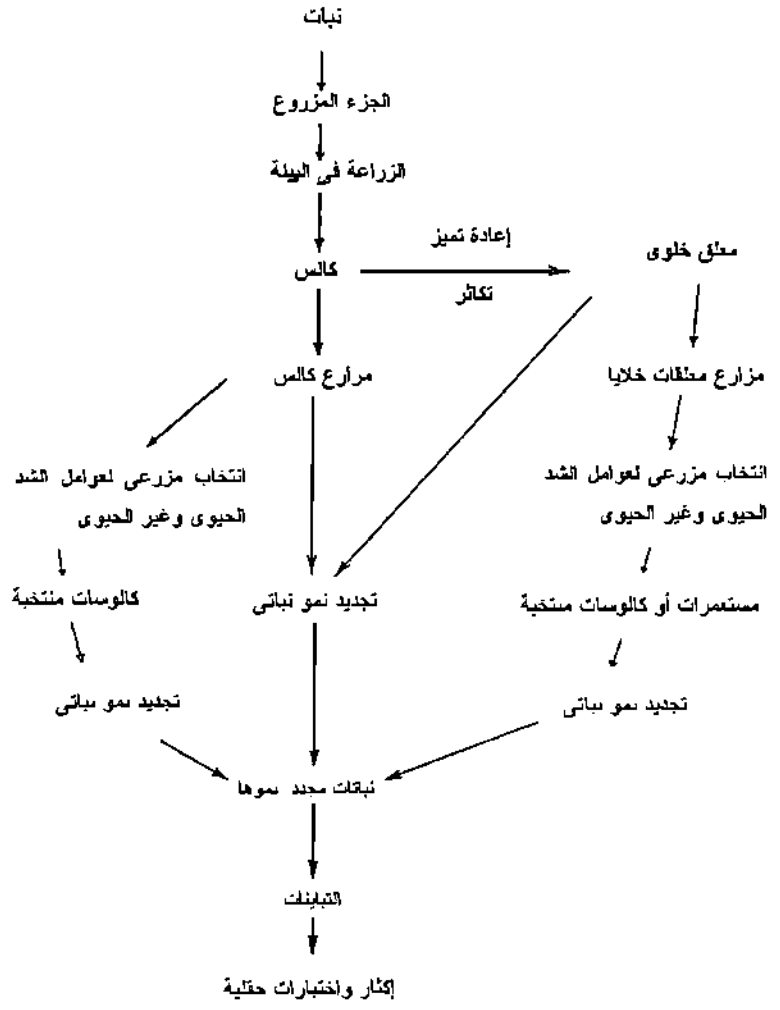
هذا وتقسم تباينات المزارع إلى فئتين رئيسيتين، هما:

١ — تباينات لا تورث epigenetic.

٢ — تباينات وراثية (تورث) genetic.

يكون معدل حدوث تباينات المزارع الوراثية genetic variation أقل بكثير من معدل ظهور التباينات الـ epigenetic. وبينما تكون التباينات الوراثية على درجة عالية من الثبات، فإن التباينات الـ epigenetic قد تكون ثابتة لبعض الوقت، إلاّ أن الصفات الجديدة غالبًا ما تعود إلى حالتها الأصلية فى الظروف التى لا يحدث فيها انتخاب لتلك التباينات الجديدة. كذلك فإن الصفات الـ epigenetic غالبًا ما تنتقل إلى النسل من خلال الانقسام الميتوزى، ولكن نادرًا ما يحدث ذلك من خلال الانقسام الميوزى.

ويتناسب معدل ظهور التباينات الـ epigenetic طرديًا مع شدة الانتخاب التى تتعرض لها المزارع لأجل ظهور تلك التباينات.



شكل (٥-١): تخطيط للطريقة التى يمكن بها حث تكوين تباينات المزارع وانتخابها

تباينات المزارع غير الوراثية

تعرف التباينات التى لا تورث (الـ epigenetic) — كذلك — باسم التباينات التطورية developmental variation، وهى تتضمن تغيرات فى الشكل المظهرى تدوم

لفترة، وتنتج عن تغيرات فى تعبير بعض الجينات، كالجين المسئول عن تكوين الأشواك فى طور الحداثة فى الوالح، فيلاحظ أن الأجزاء النباتية المزروعة — والمأخوذة من نباتات مكتملة النمو وناضجة — تتأقلم على الزراعة فى البيئات الصناعية بأن تصبح أكثر حداثة بصورة مضطردة، الأمر الذى يستمر حتى وقت تجديد النمو . وهنا تكون حالة النمو الجديد — من حيث مدى اكتمال النمو أو درجة الحداثة فيه — متوافقة مع وضع الحداثة فى المزرعة وقت تجديد النمو. كذلك فإن مزارع الكافور قد تعطى نموات جديدة ذات أوراق جالسة، وهى إحدى صفات الحداثة هذا إلا أن تلك الصفات تختفى بمرور الوقت ويتوقف ظهورها لتحل محلها صفات النباتات التى أخذت منها الأجزاء التى استخدمت فى الزراعة

ومن أبرز الأمثلة على تغيرات المزارع غير الموروثة فقد الكالس لاحتياجاته من الأوكسينات، أو السيتوكينينات، أو الفيتامينات، وهى الظاهرة التى تعرف باسم التعود habitulation النسيجى أو الخلوى. ومن أمثلة التغيرات الأخرى غير الموروثة قوة النمو الكبيرة خارج بيئة الزراعة، الأمر الذى قد يكون مرده إلى الارتداد لحالة الحداثة أو إلى التخلص من الإصابات الفيروسية. يستمر ذلك النمو القوى لحين الإزهار، حيث يعود النبات بعدها إلى الشكل المظهرى للنبات الأصلى الذى أخذ منه الجزء الذى استخدم فى الزراعة وقد حاولت المشاتل التجارية الاستفادة من تلك الظاهرة بإنتاج بادرات قوية النمو يسهل شتلها، وتنمو سريعًا كذلك يُعتقد بأن التقزم المؤقت هو من بين التباينات التى لا تورث، والتى قد يكون مردها إلى ما تحمله نباتات المزارع معها من منظمات النمو التى حصلت عليها من بيئة الزراعة، وغالبًا ما تعود تلك النباتات إلى نموها الطبيعى بعد موسم نمو واحد (عن Skirvin وآخرين ١٩٩٤)

ولقد اقترح أن مجرد تعرض الخلايا للصدمات — كما هو الحال فى مزارع الأنسجة — فإنها قد تشهد تغيرات فى التعبير الجينى يختلف عما يكون عليه الحال فى الظروف الطبيعية، مما يؤدى إلى ظهور تغيرات مورفولوجية فى النباتات التى يتجدد نموها من تلك المزارع (عن Jain ٢٠٠١).

تعبر التغيرات الـ epigenetic — غالبًا — عن تحورات فى التعبير الوراثى أكثر منها تغيرات فى التركيب الجينى

وتعود تلك التغيرات الـ epigenetic – غالبًا – إلى ثلاثة أحداث خلوية، هي:

١ – التضخيم الجيني gene amplification.

٢ – مثلمة الدنا DNA methylation.

٣ – زيادة في نشاط العناصر التي تغير وضعها transposable elements

يعتقد بأن زيادة التعبير الجيني تحت ظروف الشدّ الانتخابي العالي – فيما يعرف بالتضخيم الجيني – يعد أحد الوسائل الرئيسية لظهور التباينات الـ epigenetic التي تختفي تدريجيًا بزوال عامل الضغط الانتخابي المؤثر.

ويقدر أن نحو ٢٥٪ من الهيئة الوراثية لأي نبات يمكن أن يحدث بها مثلمة methylation في مواقع السيتوسين cytosine وعلى الرغم من أن أهمية ذلك العامل ليست معلومة، فقد اقترح أن حدوث methylation، و demethylation للدنا هو أحد الوسائل التي يمكن عن طريقها التحكم في النشاط النسخي transcriptional activity للدنا، علمًا بأن حدوث الـ methylation والـ demethylation أمر تحفزه ظروف بيئات المزارع

أما الزيادة في نشاط العناصر التي تغير وضعها فإنها تحدث بوضوح في مزارع الأنسجة حيث تظهر عناصر elements وراثية قادرة على التحرك حول الهيئة الوراثية، بما يؤثر بشدة على عملية تنظيم عمل الجينات gene regulation، ويزداد تحرك تلك العناصر في المزارع (عن Taji وآخرين ٢٠٠٢)

تباينات المزارع الوراثية والأساس الوراثي لظهورها

تتميز مزارع الخلايا بأن كل خلية فيها يكون لها القدرة على أن تصبح فردا جديدًا، ويعني ذلك وجود احتمالات كبيرة للغاية؛ لظهور الطفرات في النباتات التي تتميز من هذه المزارع نظرا للأعداد الهائلة من الخلايا التي توجد بها فعلى سبيل المثال يحتوى كل ١٠٠ مل من مزرعة معلق خلايا التبغ على أكثر من ١ × $١٠^{٧}$ خلية ولا يحتاج الأمر إلى أكثر من تطوير طريقة مناسبة لتقييم هذه الخلايا للصفة أو الصفات المرغوب فيها، بحيث لا تبقى في المزرعة سوى الخلايا المحتوية على الطفرات المرغوبة ثم توفير الظروف التي تساعد على تميز الأجنة من هذه الخلايا المطفرة

تحدث التغيرات الوراثية — تلقائيًا — فى جميع أنواع المزارع تقريبا، وتعرف - كما أسلفنا - باسم Somaclonal Variation. وقد أمكن التعرف على اختلافات وراثية فى صفات المقاومة للأمراض، وعدد الأيام إلى الإزهار، والمحصول، وحجم النبات، وشكل الجزء الاقتصادى من النبات .. إلخ، ولوحظت هذه التباينات فى مزارع محاصيل متنوعة، مثل قصب السكر، والبطاطس، والتبغ، والأرز، والذرة، والشعير، والبرسيم، والجزر، والأناناس، والخس، والثوم، والصليبيات، والقرنفل .. إلخ (عن Carlson وآخرين ١٩٨٤، و Daub ١٩٨٤)

ويمكن إرجاع الأساس الوراثى لتباينات المزارع لأى من الأسباب التالية:

١ — حدوث تباينات على المستوى الكروموسومى

كثيرًا ما تحدث فى مزارع الأنسجة تغيرات فى كل من أعداد الكروموسومات وتركيبها؛ فالتضاعف الكروموسومى التام وغير التام أمر عادى، كما تظهر الكثير من التغيرات الكروموسومية التركيبية، مثل حالات النقص، والإضافة، والانقلاب والانتقال. وبينما تكون تلك التغيرات الكروموسومية الكبيرة واضحة بسهولة عند الفحص المجهرى، فإن التغيرات الصغيرة جدًا — التى لا يسهل رؤيتها — قد تكون أكثر حدوثًا وأكثر تأثيرًا على التركيب الوراثى.

وعلى الرغم من أن حالات التعدد الكروموسومى غير التام aneuploidy نادرًا ما تظهر فى الطبيعة إلا فى النباتات المتضاعفة بطبيعتها إلاّ أنها كثيرة الشيوع فى مزارع الأنسجة، وظهرت فى مزارع عديد من النباتات، مثل البسلة، والتبغ، والجزر، والفول. كما تنشأ حالات كثيرة من التعدد الكروموسومى غير التام، والتام فى مزارع متوك بعض النباتات مثل الداتورة، والشعير، والأرز، والبيتونيا.

كما أمكن إحداث التضاعف الذاتى بسهولة فى مزارع الخلايا؛ بإضافة الكولشيسين إليها مباشرة فأمكن — على سبيل المثال — إنتاج ٤٨٠ نباتًا متضاعفًا بانتظام من مزرعة خلايا لأحد الهجن النوعية فى الجنس *Saccharum* كان قد أضيف إليها الكولشيسين بتركيز ٥٠ مجم/لتر لمدة ٤ أيام. ويحدث التضاعف الكروموسومى الطبيعى بانتظام كذلك

فى كثر من مزارع الخلايا، وكثيرا ما وجدت حالات تضاعفت فيها الخلايا الثنائية إلى ٤ن، و ٨ن، وأحيانًا إلى ١٦ ن

ولقد ظهرت نباتات رباعية التضاعف بين نباتات القاوون التى تجدد نموها فى المزارع من كل من الأجنة الجسمية، والنموات الخضرية العرضية adventitious shoots، ومبادئ النموات الخضرية shoot primprdia، وذلك بنسبة ٣١٪، و ٣٠٪، و ٤٪ على التوالى، بينما لم تظهر أى نباتات رباعية التضاعف بين تلك التى تكاثرت من البراعم الجانبية axillary buds (Ezura وآخرون ١٩٩٢).

يحدث التضاعف فى نباتات المزارع نتيجة للتضاعف الذاتى أو لاندماج مكونات الأنوية، ويتضمن التباين الكروموسومى كلا من التضاعف الكروموسومى غير التام والتام قد تحدث حالات التضاعف غير التام نتيجة لعدم الانفصال الكروموسومى non-disjunction، أو لاختلال فى تكوين خيوط المغزل، أو نتيجة لحدوث كسور كروموسومية يترتب عليها تكوين كروموسومات عديمة السنترومير أو ذات سنترومين ومن المعتقد أن التحكم الطبيعى فى دورة الخلية — الذى يمنع انقسام الخلية قبل اكمال انقسام الدنا — هذا التحكم يختل فى مزارع الأنسجة، مما يؤدى إلى حدوث كسور كروموسومية، تؤدى بالتالى إلى ظهور حالات الاقتضابات deletions، والازدوجات duplications، والانقلابات inversions، والانتقالات الكروموسومية translocations وهذه الكسور الكروموسومية تكون غير عشوائية، حيث تتضمن المناطق الكروموسومية التى تتأخر فى الانقسام وهى التى تحتوى على الكروماتين الخامل heterochromatin وقد تؤدى الكسور الكروموسومية إلى تكون طفرات بصورة مباشرة من خلال إحداثها لظاهرة التأثير الوضعى position effect، أو تحريرها للتعبير الجينى بسبب ما تحدثه الكسور من إعادة ترتيب للمواضع الكروموسومية فى أماكن قريبة من مناطق كروموسومية خاصة ذات كروماتين خامل كذلك فإن التغيرات فى مستوى مثلمة الدنا DNA methylation يمكن أن تحفز حدوث الكسور الكروموسومية

وتختلف درجة عدم الثبات الكروموسومى فى مزارع الأنسجة من نوع نباتى لآخر،

كما تتأثر حالة عدم الثبات الكروموسومى — كذلك — بعمر الكالس، فكلما ازداد عمره كلما ازدادت درجة عدم الثبات

٢ — العبور الجسمى:

تزداد حالات العبور الجسمى somatic crossing over فى ظروف مزارع الأنسجة، كما تزداد فيها — كذلك — حالات التبادل غير المتناظر asymmetric بين الكروموسومات غير المتماثلة non-homologus أثناء الانقسام الميتوزى، الأمر الذى قد يؤدى إلى حدوث نقص أو تكرار فى أجزاء من الكروموسومات يمكن أن تنعزل فى الانقسامات الميتوزية التالية.

كما قد يتسبب العبور الميتوزى mitotic crossing over فى ظهور بعض التباينات الوراثية التى تقود إلى تعبير بعض الجينات المتنحية عن ذاتها نتيجة لتواجدها فى تراكيب عبورية أصيلة.

٣ — تكوين الطفرات العاملية.

تكون بعض التغيرات المورفولوجية التى تظهر فى النباتات التى يتجدد نموها من مزارع الأنسجة عبارة عن طفرات عاملية بسيطة قد تكون سائدة أو متنحية، وبسيطة أو كمية، ولكنها تكون غالبًا بسيطة ومتنحية وقد أوضحت الدراسات التى أجريت على المستوى الجزيئى للدنا أن تلك التغيرات تكون فى الموقع الجينى ذاته، ولا يكون مردها إلى أى فقد أو إضافة كروموسومية.

لا تعبر الطفرات العاملية البسيطة المتنحية عن ذاتها فى الجيل الذى يحدث فيه تجديد النمو (R_0)، ولكنها تظهر فى الجيل التالى — الناتج من التلقيح الذاتى — (R_1) بنسبة ١:٣.

ومن أمثلة الطفرات المتنحية التى ظهرت فى مزارع الأنسجة حالات المقاومة للذبول الفيوزارى التى ظهرت فى مزارع الطماطم، وحالات تحمل بعض مبيدات الحشائش (chlorsulfuron، و sulfometuron methyl) التى ظهرت فى مزارع التبغ، كما أمكن التعرف على ١٣ طفرة يتحكم فى كل منها جين واحد فى ٢٣٠ نباتًا تجدد نموها من مزارع أنسجة الطماطم.

٤ — التغيرات فى دنا عضيات الخلية (التغيرات الوراثية السيتوبلازمية)

تتضمن التغيرات السيتوبلازمية الوراثية دنا الميتوكوندريات، كما هو معروف بالنسبة للحساسية لسم السلالة T من الفطر *Drechslera maydis* مسبب مرض لفحة الأوراق الجنوبية فى الذرة، التى توجد فى كل التراكيب الوراثية للذرة التى تحتوى على سيتوبلازم سلالة تكساس العقيمة الذكر cms-T، فهاتان الصفتان على درجة عالية من الارتباط ويتحكم فيهما دنا الميتوكوندريا. ولقد أمكن الحصول من مزارع الأنسجة على طفرة غير حساسة لسم الفطر ولكنها كانت — كذلك — خصبة الذكر كذلك تحدث الطفرات فى دنا الكلوروبلاستيدات، ولكن بنسبة أقل مما تحدث به فى الميتوكوندريات

٥ — تغيرات وراثية من نوعية الـ deamplification (تصغير)، والـ amplification (تضخيم) للفعل الجينى، وتنشيط العناصر المتنقلة transposable elements الذى يدفع الجينات التى كانت فاقدة التأثير (الساكتة) silent إلى إظهار تأثيرها، والـ methylation والـ demethylation للدنا، كما يلى:

أ — مضاعفة وتضخيم الدنا DNA amplification:

يؤدى تضاعف وتضخيم الدنا إلى زيادة إنتاج الرنا الرسول mRNA والبروتين الذى تُنتجه الجينات المكونة لذلك الدنا، وذلك أمر قد يحدث فى تباينات المزارع، كما ظهر فى تباينات المقاومة لمبيدات الحشائش فى مزارع أنسجة البرسيم الحجازى

ب — عناصر (الدنا) المتحركة transposable elements

إن عناصر الدنا المتحركة هى أجزاء من الدنا يمكنها التحرك من مكان لآخر فى الهيئة الكروموسومية، ويمكن أن يؤدى انفصال تلك الأجزاء عن أماكنها وإعادة التصاقها فى مكان آخر من نفس الكروموسوم أو فى كروموسوم آخر إلى احتمال إحداثها لتأثيرات مباشرة على تعبير الجينات المجاورة لها

جـ - مثلمة الدنا DNA methylation.

يمكن أن يكون التباين فى مدى تشبع الدنا بالميثانول عاملاً رئيسيًا فى حدوث الطفرات فى المزارع، إذ إنه يمكن أن يؤخر انقسام الكروماتين الخامل heterochromatin، مما يترتب عليه حدوث كسور كروموسومية وتغيرات فى التعبير الجينى.

كما أن مثلمة الدنا يمكن أن يزيد من إحداث التباينات فى الصفات الكمية بسبب احتمال تأثيره على عديد من الجينات فى آن واحد هذا إلا أن التباينات الناتجة تكون من النوع الـ epigenetic، ولا يترتب على مثلمة الدنا سوى حالة من عدم الثبات الوراثى (عن Brar & Jain ١٩٩٨، و Jain ٢٠٠١، و Chahal & Gosal ٢٠٠٢)

أمثلة لبعض أنواع تباينات المزارع

جُمعَت التباينات الوراثية التى ظهرت فى مزارع الأنسجة لمختلف الأنواع المحصولية بين الصفات النوعية والكمية، ومن أمثلتها ما يلى

١ — العقم الذكرى فى الذرة.

٢ — المحتوى البروتينى المرتفع فى كل من الأرز والترتيكيل

٣ -- محتوى السكر المرتفع فى قصب السكر

٤ - التبكير فى الذرة

٥ — التغيرات فى طول النبات، والسفا، وعدد الخلفات، ولون الحبوب، وموعد ظهور السنابل، والبروتين الجلوتينى gliadin protein، والألفا أميليز فى القمح

٦ — تحمل مبيد الحشائش أترازين atrazine فى الطماطم والذرة، والجلايفوسيت فى التبغ

٧ — المقاومة للأمراض فى الذرة، وقصب السكر، والمسترد، والبطاطا

٨ — تحمل الملوحة فى الأرز.

٩ — ارتفاع محتوى الليسين والثيونين فى الحبوب

١٠ — زيادة قوة نمو البادرات فى الخس.

١١ — انعدام المفصل فى عنق ثمار الطماطم (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢)

ولقد أمكن العثور على تباينات مرغوبة فيما فى مختلف أنواع المزارع، كما يتبين من الأمثلة التالية:

أ — مزارع الخلايا والكالس

انتخبت سلالات طفرية كثيرة من مزارع الخلايا سواء أكان ذلك بعد تعريض المزارع للعوامل المطفرة، أم بدون ذلك التعريض. وكانت أبسط طرق الانتخاب

وأكثرها شيوعًا هى الانتخاب المباشر بتعريض مزرعة الخلايا لمستويات عالية — إلى درجة السمية — من مركبات معينة، بحيث لا تتبقى فى المزرعة سوى الخلايا المقاومة لهذه المركبات، لتتكاثر، وتصبح سلالات طفرية جديدة. ويمكن التأكد من مستوى المقاومة فى هذه الطفرات بإعادة زراعة السلالات الطفرية فى مستويات أعلى من هذه المركبات وقد أمكن — باتباع هذه الطريقة — انتخاب طفرات مقاومة لشابهات الأحماض الأمينية، ومضادات الحيوية، ومبيدات الحشائش، وسموم الفطريات، والبكتيريا المرضية، وكلوريد الصوديوم .. إلخ، وكذلك سلالات أعلى فى القيمة الغذائية ويعيب هذه الطريقة عدم صلاحيتها للانتخاب لعديد من الصفات المحصولية المهمة

وتجدر الإشارة إلى كثرة ظهور الطفرات فى مزارع الخلايا والكالس، دون الحاجة إلى تعريضها للعوامل المطفرة كما لم يمكن — فى بعض الحالات — زيادة معدل حدوث الطفرات بمعاملة مزارع الأنسجة بالعوامل المطفرة. ولمزيد من التفاصيل عن هذا الموضوع يراجع Gonzales & Widholm (١٩٨٥).

٢ مزارع البروتوبلاست.

برغم أن مزارع البروتوبلاست تعد أكثر من مزارع الخلايا والكالس ثباتا من الوجهة الوراثية . إلا أنه تظهر بها أيضًا بعض التغيرات الوراثية التى تعطى عند إكثارها سلالات جديدة، يطلق عليها اسم Protoclones. وقد انتجت بهذه الطريقة سلالات جديدة من صنف البطاطس رصت بربانك Russet Burbank تميزت باختلافات نوعية وكمية عن الصنف الأصلى. وتكمن المشكلة الحقيقية لمزارع البروتوبلاست فى قلة الأنواع النباتية، التى أمكن تمييز نباتات كاملة منها (عن Sink ١٩٨٤). ولمزارع البروتوبلاست أهميتها الكبيرة فى إحداث التباينات الوراثية بالنسبة للنباتات العقيمة التى تكثر خضريًا، والنباتات ذات دورات الحياة الطويلة جدًا، لأن التغيرات الوراثية التى تظهر فى هذه المزارع تكون طفيفة؛ مما يسمح بالاستفادة منها فى تطوير المحصول بصورة تدريجية (Power & Chapman ١٩٨٥). ولمزيد من التفاصيل عن هذا الموضوع .. يراجع Bright وآخرون (١٩٨٣).

وعندما دُرِس معدل ظهور التباينات الوراثية الجديدة فى سلالة الخيار Borszczagowski الذى صاحب خمس طرق مختلفة لتجديد النمو .. كانت النتائج، كما يلى.

طريقة تجديد النمو	التباينات الوراثية الجديدة (% من السلالات)
micropropagation	صفر
direct leaf callus regeneration	قليلة جدًا
callus regeneration	٥,٩
recurrent leaf callus regeneration	٤٢,٨
direct protoplast regeneration	٩٠

هذا .. ولم تظهر النباتات الرباعية التضاعف إلاّ عندما كان تجديد النمو بطريقتى leaf callus regeneration، و recurrent leaf callus regeneration، حيث بلغت نسبة النباتات المتضاعفة ٤,٧، و ٢٨٪، على التوالى (Plader وآخرون ١٩٩٨).

٣ — مزارع الجاميطات:

يطلق على التباينات التى تشاهد بين النباتات التى يتجدد نموها من مزارع الجاميطات اسم تباينات سلالات الجاميطات gametoclonal variation، وذلك مقارنة بتباينات السلالات الجسمية somaclonal variation الذى يُتحصل عليه من مزارع الأنسجة الجسمية. ويمكن الحصول على تباينات سلالات الجاميطات من زراعة الخلايا الجاميطية أو مشتقاتها. وبخاصة مزارع المتوك والـ microspores (عن Chawla ٢٠٠٠).

ولمزارع حبوب اللقاح أهمية خاصة فى هذا الشأن؛ ويرجع ذلك إلى أنها أحادية المجموعة الكروموسومية، وهو ما يعنى ظهور الطفرات المتنحية بمجرد حدوثها، يلزم فى هذه الحالة تعريض حبوب اللقاح للعامل المطفر، ثم زراعتها لإنتاج النباتات الأحادية التى تُقيَّم بدورها لتمييز النباتات الحاملة للطفرات المرغوب فيها، وهى التى تُضاعف — بعد ذلك — بالكولشيسين؛ لإكثارها والمحافظة عليها. وتزداد أهمية النباتات الأحادية عند وجود أكثر من طفرة متنحية فى النبات الواحد؛ حيث تظهر جميعها فى آن واحد، دونما حاجة إلى إجراء التلقيح الذاتى، وزراعة أعداد كبيرة من

نباتات الجيل الطفرى الثانى؛ للتعرف على النباتات التى تحمل جميع الطفرات المتنحية بحالة أصيلة مثلما يتطلب الأمر فى النباتات الثنائية

ومن المزايا الأخرى لمزارع حبوب اللقاح .. أن الطفرات المتكونة تظهر فى جميع خلايا النبات الأحادى، ولا تكون على صورة كيميرا، كما يحدث فى النباتات الثنائية المجموعة الكروموسومية ويمكن إنتاج الطفرات إما بتعريض المتوك للعوامل المطفرة قبل زراعتها، وإما بإنتاج نباتات أحادية من مزارع متوك غير معاملة، ثم تحضير مزارع خلايا أوبلاوتوبلازم منها، ومعاملتها بالعوامل المطفرة؛ لإحداث الطفرات المقاومة لمركبات كيميائية معينة، أو التى تتحمل ظروفاً بيئية خاصة، ثم إنتاج نباتات كاملة منها

وبالنسبة لأصناف برامج التربية التى اعتمدت على تباينات المزارع .. فهى متنوعة كما يتبين من الأمثلة التالية:

● تعددت محاولات استخدام مختلف أنواع المزارع من قبل مربى النبات لانتخاب سلالات مقاومة للآفات، أو لظروف بيئية معينة، وعلى سبيل المثال تمكن Bourgeais (١٩٨٧) من زيادة القدرة على تحمل الملوحة فى مزارع صنف الطماطم St-Pierre بتكرار زراعتها أربع مرات فى بيئات تحتوى على تركيزات متزايدة من كلوريد الصوديوم، وصلت إلى ١٠٠ ملى مول، واستخدام فى هذه المزارع إما القمة الطرفية للسيقان، وإما كالس حصل عليه من جذور وسيقان النباتات. ويذكر Stavarek & Rains (١٩٨٤) أنه أمكن انتخاب سلالات خلايا Cell Lines مقاومة للملوحة من مزارع الخلايا لعدة محاصيل زراعية، منها الفلفل، والبرتقال، وقصب السكر، والبن، والأرز، والقلقاس، والبرسيم الحجازى، والتبغ وتكمن المشكلة — فى برامج التربية التى من هذا النوع — فى صعوبة الحصول على نباتات كاملة من سلالات الخلايا المنتخبة لمقاومة الملوحة (أو غيرها من العوامل البيئية)؛ ففى البرسيم الحجازى كانت المزرعة التى أجرى فيها الانتخاب قديمة، وحدث فيها تغيرات وراثية فى صفات كثيرة إلى درجة لم تسمح بنمو النباتات التى تميزت منها لاختبار مقاومتها للملوحة وإكثارها، وفى الأرز كانت النباتات المقاومة للملوحة الناتجة من سلالات الخلايا عقيمة بدرجة

عالية، ولكن أمكن الحصول على نباتات من مزارع التبغ كانت قادرة على النمو فى محلول مغذ يحتوى على ٦٢ ٢٪ كلوريد صوديوم

• فى مجال التربية لمقاومة التركيزات المرتفعة من عنصر الألومنيوم (حيث يصل العنصر لتركيزات عالية إلى درجة السمية فى الأراضى الحامضية) .. أمكن انتخاب عدة سلالات خلايا Cell Lines من صنف الطماطم مارجلوب Marglobe عند زراعتها فى بيئة مغذية، تحتوى على ألومنيوم فى صورة Al-EDTA بتركيز ٢٠٠ ميكرومول، لكن لم يمكن إنتاج نباتات من هذه المزرعة لأن الكالس كان مسنًّا. وأمكن فى دراسة أخرى انتخاب سلالات خلايا من الجزر مقاومة للتركيزات المرتفعة من الألومنيوم، وهو على صورة كلوريد الألومنيوم، وأمكن إنتاج نباتات كاملة منها وقد لقحت هذه النباتات ذاتيًا، واختبرت بادراتها فى محلول مغذ، يحتوى على تركيز مرتفع من كلوريد الألومنيوم، ووجد أنها كانت على درجة عالية من المقاومة

• أمكن كذلك الاستفادة من مزارع الخلايا فى إنتاج سلالات تبغ مقاومة لفيرس الموزايك وقد تحقق ذلك بعدوى أوراق نبات تبغ أحادى المجموعة الكروموسومية بشكل متجانس تمامًا بإحدى سلالات الفيرس، ثم تعريضها لأشعة جاما. وأخذت بعد ذلك أجزاء من نسيج هذه الأوراق، وزرعت فى بيئة مغذية، تحتوى على تركيز مرتفع من السيتوكينين، وعرضت لإضاءة قوية. سمحت هذه الظروف بحدوث نمو غير متساو للخلايا المحتوية على الفيرس (القابلة للإصابة) والخالية منه (المقاومة التى حدثت بها الطفرات) بحيث أمكن التمييز بين الكالس الأصفر البطئ النمو (المصاب)، والأخضر السريع النمو (المقاوم)، وأمكن من بين ٣٢١٠ calli (جمع كالس) الحصول على سبعة نباتات كانت مقاومة للفيرس، هذا . بينما لم يُحصل على أية نباتات مقاومة للفيرس من الأوراق التى لم تعرض للأشعة. وقد استمرت المقاومة فى نسل هذه النباتات، وظهرت على شكل نقص فى تركيز الفيرس، وضعف حركته فى النبات مما أدى إلى تأخير ظهور الأعراض لمدة ٣–٨ أسابيع، مقارنة بالنباتات غير المقاومة (عن Daub ١٩٨٤)

• استخدمت سموم المسببات المرضية فى انتخاب سلالات خلايا Cell Lines مقاومة

لهذه المسببات وقد جذبت هذه الطريقة الانتباه إليها لسهولتها. ولأن جميع الخلايا تعرض لمستوى واحد من سموم المسببات المرضية، ولكن يعيبها أن نسبة بسيطة فقط من المسببات المرضية هى التى تُنتج سمومًا، وأن قليلاً من هذه السموم هو الذى أمكن عزله وتنقيته، لاستخدامه فى الانتخاب للمقاومة، كما أن بعض السموم تكون خاصة بعوائل معينة hos-specific، وتحدث بها نفس الأعراض التى تحدثها المسببات المرضية ذاتها، بينما تكون سموم أخرى ذات تأثير عام non-host-specific على عدد كبير من الأنواع النباتية. ويكون دورها فى إحداث الأعراض المرضية أقل من سابقتها

ومن أمثلة سلالات الخلايا التى انتخبت لمقاومتها لسموم المسببات المرضية أو راشح بيئاتها Culture Filtrates، والتى تميزت نباتات كاملة منها ما يلى:

أ – المقاومة للبكتيريا *Pseudomonas syringe* فى التبغ

ب – المقاومة لفطرى *Phytopthora infestans*، و *Fusarium oxysporum* فى البطاطس

جـ – المقاومة لفطر *Phoma lingam* فى لفت الزيت *Brassica napus* (عن *Daub* ١٩٨٤)

د – أمكن كذلك عزل سلالات من الذرة، تحتوى على صفة العقم الذكرى السيتوبلازمى مع المقاومة لسموم السلالة T من الفطر *Helminthosporium maydis* المسبب لمرض لفحة الأوراق الجنوبية، بواسطة تعريض مزارع أنسجة من سلالات ذرة، تحمل سيتوبلازم تكساس الخاص بالعقم الذكرى، لسموم الفطر. ووجد أن صفة المقاومة هذه تورث عن طريق السيتوبلازم، وأن النباتات المنتخبة كانت مقاومة لدى اختبارها تحت ظروف الحقل وجدير بالذكر، أن جميع أصناف الذرة التى تحتوى على سيتوبلازم تكساس العقيم الذكر Texas Male Sterile Cytaplasm تصاب بهذا الفطر بدرجة أكبر بكثير من الأصناف الأخرى ويبدو أن سم هذا الفطر يؤثر فى الميتوكوندريا (عن Cooking & Riley ١٩٨١). ولمزيد من التفاصيل عن دور مزارع الأنسجة فى الانتخاب لمقاومة الأمراض .. يراجع Earle & Gracen (١٩٨١)، و Daub (١٩٨٤)

العوامل المؤثرة فى معدل تباينات المزارع

تتوفر تقارير تفيد حدوث تباينات مزارع بنسب عالية وصلت فى الكرفس إلى ١٠٠٪، وفى خصوبة القمح إلى ٣٪-٢٦٪، كما قدر البعض أن معدل حدوث الطفرات فى الجينات المفردة تبلغ ٤-٥٪. إلاّ أن الكثرة الغالبة من تلك التباينات هى - غالبًا - ناتجة من تكاثر نباتات مزارع أو انقسامات لخلايا ظهرت بها تلك التباينات فى المزارع ذاتها؛ بمعنى أن تلك النسبة العالية من التباينات نشأت عن تكاثر لتباين سابق.

ويمكن القول - بصورة عامة - أن نسبة تباينات المزارع تتراوح - غالبًا - بين ١٪، و ٣٪. ولا يعنى ذلك توقع ظهور طفرة فى أى جين بنسبة ١-٣٪، ولكنه يعنى أن ١-٣٪ من النباتات التى يتجدد نموها فى المزارع سوف تختلف عن النبات الذى أكثرت منه فى بعض الصفات الفيزيائية أو البيوكيميائية (عن Skirvin وآخرين ١٩٩٤).

ويتأثر مدى ظهور تباينات المزارع بالعوامل التالية:

١ - مدى انحراف النمو فى المزارع عن النمو الطبيعى المنتظم:

أصبح من المعروف والمسلم به أنه كلما انحرف النمو عن الصورة الطبيعية التى تتميز فيها الخلايا بشكل طبيعى، وكلما طالت فترة ذلك الانحراف كلما زادت احتمالات ظهور تباينات المزارع. وعلى سبيل المثال .. تُعد مزارع الكالس القديمة ومزارع معلقات الخلايا غير ثابتة وراثيًا، وغالبًا ما تُظهر النباتات التى يتجدد نموها منها أو من البروتوبلاستات التى يتحصل عليها منها قدرًا كبيرًا من تباينات المزارع.

هذا .. ويتباين كثيرًا مستوى التضاعف فى النباتات التى يتجدد نموها من مزارع الكالس، ومزارع معلقات الخلايا، ومزارع البروتوبلاست، مما يدل على ضعف التحكم فى تنظيم خطوات الانقسام الميتوزى أثناء تكاثر الخلايا بالمزارع.

٢ - فترة النمو المرزعى (فى البيئة الصناعية):

كثيرًا ما تتراكم التباينات فى المزارع القديمة التى حوفظ عليها لفترة طويلة - كما أسلفنا بيانه - إلى درجة أنه عند الإكثار الدقيق يتعين التوقف عن إعادة زراعة المزارع بعد فترة معينة (بغرض الحد من الـ subculturing)؛ لما قد تتضمنه كثرة إعادة الزراعة من مخاطر ظهور تباينات المزارع. ولذا .. تلجأ شركات الإكثار الدقيق إلى بدء مزارع

جديدة بصورة منتظمة، مع إنهاء المزارع القديمة (عدم تجديدها) لضمان استمرارية إنتاج الشتلات

أما عندما تكون المحافظة على المزارع لأطول فترة ممكنة أمرا ضروريًا – كما فى بنوك الجيرمبلازم – فإن المزارع تحفظ فى أوعية محكمة الإغلاق فى الثلاجة أو فى النيتروجين السائل

وعلى الرغم من أهمية المحافظة على الجيرمبلازم من التغير الوراثى، فإن الجيرمبلازم المخزن لفترة طويلة يمكن أن يكون مصدرًا جيدا للتباينات الجديدة

٣ – التركيب الوراثى للنبات الذى يؤخذ منه الجزء المزروع:

يتباين مدى الاستعداد لظهور تباينات المزارع باختلاف التركيب الوراثى للنبات الذى أخذ منه الجزء المزروع، كما أن النباتات المتضاعفة – بما لها من قدرة أكبر على تحمل التغيرات الوراثية فيها – تكون أكثر إنتاجًا للتباينات فى المزارع وبينما يكون للطفرات الجينية فرصة أكبر للظهور فى النباتات الأحادية والثنائية فإن فرصتها للبقاء تكون أكبر فى النباتات المتضاعفة، حتى وإن كانت لها تأثيرات ضارة.

وتحديدًا .. فإن معدل ظهور تباينات المزارع يتوقف على العوامل التالية التى تتعلق بالتركيب الوراثى للنبات الذى يؤخذ منه الجزء المزروع:

أ - التركيب الوراثى للصنف المستعمل

يستدل من عديد من الدراسات على أن معدل ظهور تباينات المزارع تتأثر بالتركيب الوراثى للنبات المستعمل، حيث توجد تباينات صنفية داخل النوع النباتى الواحد، وأخرى نوعية داخل الجنس الواحد

ب – عمر الصنف المستعمل:

يبدو أنه لا يوجد ارتباط كبير بين عمر الصنف المستعمل فى الزراعة ومعدل ظهور التباينات فيه، على الرغم من توقع ظهور تباينات أكثر فى الأصناف القديمة التى قد تتراكم فيها الطفرات وتأخذ فرصتها للتعبير عن ذاتها فى مزارع الأنسجة

جـ – مستوى التضاعف:

يبدو أن التباينات التى تظهر فى المزارع تكون أعلى فى النباتات المتضاعفة، وفى الأنواع التى تحتوى -- أصلاً — على عدد كبير من الكروموسومات عما فى النباتات الثنائية العدد الكروموسومى وتلك التى ينخفض عدد الكروموسومات فيها ولعل قصب السكر من الأمثلة التى تؤيد ذلك، وهو نبات يحتوى على عدد كبير من الكروموسومات، وكان أول نبات اكتشفت فيه تباينات المزارع وعند عمل مزارع الكالس أو البروتوبلاست فى البرسيم الحجازى الثنائى العدد الكروموسومى، فإن أول التباينات التى تلاحظ فى مزارع الكالس أو البروتوبلاستات تكون النباتات الرباعيه التضاعف، بينما تكثر فى مزارع البرسيم الحجازى الرباعى العدد الكروموسومى كلا من حالات التضاعف الكروموسومى غير التام aneuploidy والتام autoploidy

ويمكن القول أن مستوى تضاعف النبات المستخدم فى الزراعة يعد أحد أهم العوامل المؤثرة فى هذا الشأن. حيث يزداد ظهور التباينات — على الأقل تلك التى تتضمن حالات عدم الثبات الكروموسومى — بزيادة مستوى التضاعف. وقد يكون مرد ذلك إلى زيادة تحمل النباتات المتضاعفة لحالات عدم التوازن الجينى التى قد تحدث بفعل التغيرات الكبيرة التى تدخل ضمن حالات التضاعف الكروموسومى سواء أكان ذلك بالزيادة، أم بالنقصان أما بالنسبة للطفرات العاملية فإن فرصة ظهورها تكون أكبر فى النباتات الأحادية والثنائية عما فى النباتات المتضاعفة، إلا أن فرصة بقاءها — إن كانت لها تأثيرات ضارة — تزداد فى النباتات المتضاعفة

ويعد الموز (وهو ثلاثى التضاعف) من أكثر الأنواع النباتية تكوينا للتباينات فى مزارع الأنسجة، ففى أستراليا ذكر أن ٩٠٪ من نباتات الموز التى نتجت من مزارع الأنسجه كانت مخالفة للصنف تحت ظروف الحقل. وكانت معظم تلك التباينات من نوع واحد يطلق عليه اسم choke throat، وهى حالة تمنع سُباطة الموز من البزوغ من خلال الساق الكاذبة للنبات، وتعطى سُباطة شديدة الاندماج ذات أصابع صغيرة الحجم ويعتقد بأن هذا المحصول — الذى لا يحدث فيه تقدمًا يذكر عند محاولة تحسينه بطرق التربية التقليدية — قد يشهد تقدمًا ملموسًا فى تربيته إذا ما أمكن الاستفادة من التباينات الكبيرة التى تظهر فى مزارع الأنسجة

٤ – محتوى بيئات الزراعة من منظمات النمو:

تؤثر منظمات النمو - مثل الـ 2,4-D، و الـ BA – على تباينات المزارع خلال مرحلة النمو فى بيئة الزراعة من خلال تأثيرها على انقسام الخلايا، ودرجة عدم انتظام النمو، والتكاثر السريع لفئة خاصة من الخلايا ولقد وجد – على سبيل المثال – أن منظم النمو 2,4-D يتسبب فى ظهور نسبة عالية من التباينات كذلك يتسبب غاز الإنيلين عند تركيزات تقل عن ٠,١ جزء فى المليون بالحجم فى ظهور تغيرات مورفولوجية، وذلك إذا سمح له بالتراكم فى أوعية المزارع.

ومن المعتقد أن معدل ظهور التباينات يزداد بزيادة التركيز العام لمنظمات النمو، كما يمكن أن يؤثر التركيز العالى على معدل التباينات التى تظهر نتيجة للتضاعف الكروموسومى مقابل تلك التى تنشأ كطفرات عاملية

هذا إلاّ الأنواع النباتية تختلف فى مدى استجابتها لمختلف منظمات النمو، كما تختلف كذلك – فى محتوى الأجزاء النباتية المزروعة منها من منظمات النمو الطبيعية، ولذا يكون من الصعب – غالبًا – تحديد البيئة المثلى لتحفيز ظهور تباينات المزارع

كما وجد أن السيتوكينينات تقلل من مدى التضاعف بالمزارع

٥ المكونات الأخرى لبيئات الزراعة:

وجد – على سبيل المثال أن تغيير مستويات الفوسفات والنيتروجين وصور النيتروجين فى بيئة الزراعة يجعل من الممكن التحكم فى مستوى التضاعف

٦ – ظروف المزارع

تؤدى بعض الظروف التى تتعرض لها المزارع، مثل الحرارة الأعلى عن ٣٥°م، وطول مدة بقاء المزرعة إلى زيادة معدل ظهور التباينات فى النباتات التى يتجدد نموها منها

٧ – الجزء النباتى المزروع:

تجب عند محاولة الحصول على تباينات مزارع فى صنف أو نوع نباتى جديد محاولة إجراء الزراعة باستعمال explants مختلفة لأنها لا تتماثل – غالبًا – فى معدل

ظهور التباينات فيها. وبصورة عامة .. فإن التباينات تكون أقل ظهورًا عندما تستخدم فى الزراعة نموات سابقة التكوين، مثل: البراعم الإبطية، والقمة النامية الخضرية والميرستيمية، مقارنة باستخدام explants لا يوجد بها ميرستيمات سابقة التكوين لنموات خضرية، مثل: الأوراق، والجذور، والبروتوبلاست. وبعبارة أخرى .. فإنه كلما كانت الأنسجة فى الجزء النباتى المستعمل فى الزراعة أكثر تخصصًا وأكبر عمرًا كلما زادت فيها فرصة ظهور تباينات المزارع؛ ذلك لأن معظم التغيرات الوراثية المسئولة عن تلك التباينات غالبًا ما تصاحب عملية التميز النسيجى فى النمو والتطور النباتى الطبيعى.

ونجد فى الأقحوان — على سبيل المثال — أن النباتات التى يتجدد نموها من البتلات المزروعة يظهر بها قدرًا أكبر من التباينات الخاصة بلون الزهرة عن تلك التى يتجدد نموها من أعناق الأزهار.

٨ — معدل التكاثر والتزايد فى العدد proliferation rate:

تُظهر المزارع التى تزداد فيها أعداد النموات الجديدة بمعدلات عالية تباينات أكثر مما يكون عليه الحال فى المزارع التى يكون فيها معدل التكاثر متوسطًا.

٩ — إمكانية الانتخاب للتباينات فى البيئة:

يمكن إجراء الانتخاب للتباينات فى بعض الصفات المرغوب فيها، مثل: المقاومة للأمراض، وتحمل مبيدات الحشائش، وتحمل الملوحة. ولكى يكون هذا الانتخاب ذا قيمة، فإن الصفات التى يتم الانتخاب لها على المستوى الخلوى يجب أن تعبر عن ذاتها على مستوى النبات الكامل، وهو أمر لا يتحقق فى كل الصفات (عن Skirvin وآخرين ١٩٩٤، و Karp ١٩٩٥، و Gosal & Chahal ٢٠٠٢، و Taji وآخرين ٢٠٠٢).

مزايا وعيوب تباينات المزارع

إن من أهم مزايا وعيوب تباينات المزارع، ما يلى (عن Jain ٢٠٠١):

العيوب	المزايا
١ – قد لا تحدث فى الصفات الوراعية الكمية	يمكن أن تحدث فى عديد من الصفات الوراعية الهامة
٢ – تحدث كثير من التغيرات فى الاتجاه الموجب أو السالب	تحدث التغيرات بمعدلات عالية
٣ – لا يمكن التنبؤ بطبيعة التغيرات	قد تكون بعض التغيرات جديدة تمامًا، وقد لا يمكن التوصل إليها بطرق التربية التقليدية
٤ – قد لا تكون التباينات ثابتة وراثيًا	يفيد الانتخاب فى المزارع فى عزل سلالات متحملة للشد البيئى والرضى
٥ – تتطلب السلالات المنتخبة اختبارات حقلية كثيرة	يفيد الانتخاب فى المزارع فى تقصير فترة عزل التباينات المرغوب فيها
٦ – قد لا تكون التباينات ثابتة بسبب مثلمة الـ DNA methylation، والعناصر المتنقلة transposon elements	يمكن استعمال أعداد هائلة من الخلايا فى عملية الانتخاب فى المزارع

استحداث الطفرات فى مزارع الأنسجة

إن الجمع بين مزارع الأنسجة والمعاملة بالعوامل المطفرة يعد وسيلة فعالة وسريعة لتحسين المحاصيل البستانية الخضرية التكاثر، وهى طريقة اتبعت بالفعل مع كل من نخيل التمر، والموز، والتفاح، والكمثرى، والبطاطس، والبطاطا، واليام، والتيولب، والأقحوان وغيرهم وجدير بالذكر أن استحداث الطفرات يمكن أن يجرى مع أى نوع من مزارع الأنسجة، وإن كان من المفضل استخدامها فى حالات مزارع الإكثار الدقيق، وتكوين الأجنة الجسمية، والبروتوبلاست.

وإنه لمن المفضل أن تستعمل مزارع أنسجة أو مزارع بروتوبلاست على درجة عالية من النشاط والقدرة على تجديد النمو عند الرغبة فى استحداث الطفرات بتلك المزارع فإذا ما استعملت مزارع البروتوبلاست يكون من الأسهل تعريضها للعامل المطفر بعد يومين من عزل البروتوبلاست، حتى يكون قد جدد تكوين جزءًا من الجدر الخلوية؛ ومن ثم لا تحدث به أضرار من جراء كثرة المعاملات.

كذلك يمكن استخدام مزارع الميرستيم الخضرى القمى لهذا الغرض، إلاّ أن النباتات الناتجة تكون — غالبًا – كيميرية؛ مما يتطلب تقييم عدة أجيال من النسل قبل إمكان الحصول على سلالة طفرية ثابتة (عن Taji وآخرين ٢٠٠٢).

وعندما تستحدث الطفرات فى مزارع الأنسجة — وخاصة مزارع النباتات الخضرية التكاثر — بمعاملتها بالعوامل المطفرة — سواء أكانت على صورة أشعة، أم على صورة مركبات كيميائية .. فإنه يلزم فى كلتا الحالتين تحديد الجرعة التى تقتل ٥٠٪ من الخلايا LD_{50} أولاً من خلال تجارب أولية تستخدم فيها عدة جرعات من العامل المطفر، مع معاملة كنترول (شاهد) للمقارنة. وجدير بالذكر أن جرعات الأشعة التى تناسب إنتاج الطفرات فى مزارع الأنسجة تقل غالبًا عن تلك التى تلزم لمعاملة الأجزاء النباتية كالبذور مثلاً وفى معظم الحالات كانت جرعة 20 Gy مناسبة لاستحداث الطفرات فى مزارع الأنسجة، كما فى البطاطس والأقحوان ونخيل التمر على سبيل المثال (عن Ahloowalia ١٩٩٨).

ويبين جدول (٥–١): بعض الأمثلة لطفرات حُصِلَ عليها بالمعاملة بالعوامل المطفرة فى مزارع الأنسجة.

جدول (٥–١): بعض الأمثلة لطفرات حُصِّلَ عليها بالمعاملة بالعوامل المطفرة فى مزارع الأنسجة (عن Taji وآخرين ٢٠٠٢).

النبات	العامل المطفر	النسيج المستعمل	الشكل المظهرى للطفرة
البطاطس	أشعة جاما	مزارع القمة النامية	عيون سطحية — تغيرات فى شكل وحجم ولون جلد الدرنات
الأقحوان	أشعة جاما	مزارع القمة النامية	تغيرات فى شكل ولون الأزهار وحجم الزهيرات
القرنفل	أشعة جاما	مزارع القمة النامية	تغيرات فى لون وشكل الأزهار وحجم الأوراق
	أشعة إكس	عقل وحيدة العقدة فى المزارع	تغيرات فى لون الأزهار

انتخاب التباينات من مزارع الأنسجة

التوقيت المناسب لإجراء عملية الانتخاب

يعتمد التوقيت المناسب لإجراء عملية الانتخاب للصفات المرغوب فيها — قبل تجديد النمو أم بعده — على القدرة على تقييم أكبر عدد من الأفراد بأعلى كفاءة وبأقل جهد ممكن، علمًا بأن الانتخاب فى المزارع (فى البيئات) يُمكِّن الباحث من تقييم آلاف التباينات المحتملة فى طبق بترى واحد. يؤدى الانتخاب بتلك الطريقة إلى محدودية عدد النباتات التى يتجدد نموها؛ بما يعنى إمكان تركيز الجهد فى المراحل التالية على عدد أقل من الأفراد ولذا .. فإنه فى الحالات التى يقل فيها كثيرًا عدد النباتات التى يتجدد نموها، فإن تأجيل الانتخاب إلى ما بعد تجديد النمو ربما يزيد من فرص النجاح. ويتوقف الاختيار بين الانتخاب فى المزارع أو فى النباتات المتجدد نموها منها على أمور عدة، فمثلاً قد يؤدى تعريض المزارع لشدٍّ انتخابى كبير إلى الفشل التام فى تجديد النمو النباتى منها، بينما يعنى البديل الآخر ضرورة زراعة وتقييم كل ما يتجدد نموه من نباتات وعمومًا .. فإن الانتخاب فى المزارع يكون هو الأفضل إذا ما أمكن تعريضها للعامل الانتخابى، بينما يفضل تأجيل الانتخاب إلى ما بعد تجديد النمو إن لم يمكن تحقيق هذا العامل الانتخابى فى المزارع (عن Remotti ١٩٩٨)

أسلوب التعريض لعوامل الشدِّ التى يجرى على أساسها الانتخاب

يوجد اتجاهان يتعلقان بطريقة انتخاب التباينات فى مزارع الأنسجة، من حيث أسلوب تعريض المزارع لحالات الشدِّ التى يجرى على أساسها الانتخاب؛ أيكون فجائيًا، أم تدريجيًا، كما يلى.

١ — طريقة التعريض الفجائى لحالات الشدِّ:

تبعًا لتلك الطريقة .. يتعين مراعاة ما يلى:

أ — يحدد المستوى المثبط لعامل الشد الذى يؤدى إلى موت كل الخلايا المزروعة تقريبا، أو يمنعها من النمو

ب — تجهز بيئة زراعة تزود بضعف إلى ثلاثة أضعاف المستوى المثبط لعامل الشدِّ الذى سبق تحديده.

جـ - تُزرع الخلايا فى البيئة المجهزة بالمستوى المثبط من عامل الشدّ.

د — ينتظر لفترة كافية لحين نمو التباينات المحتملة للمستوى المرتفع من عامل الشدّ.

هذا . إلا أن ذلك الأسلوب فى انتخاب التباينات المرغوب فيها قد يكون قاسيًا بدرجة شديدة تموت معه كل الخلايا المزروعة حتى المقاومة منها، بسبب نواتج الأيض السامة التى تنتج من الخلايا الميتة الحساسة

٢ — طريقة التعريض التدريجى لحالات الشدّ.

يتم تبعًا لهذه الطريقة تعريض المزرعة لتركيزات متزايدة تدريجيًا من عامل الشدّ لا تصل إلى المستويات السامة للخلايا الحساسة إلاّ فى المراحل المتأخرة من الاختبار.

هذا وما أن تنمو إحدى سلالات الخلايا المقاومة للمستويات العالية من عامل الشدّ .. فإن المزرعة يجب أن يُعاد اختبارها للمقاومة للعامل المثبط، وأن تختبر لثبات خاصية المقاومة، وذلك بزراعة السلالة المنتخبة بعيدًا عن العامل المثبط لعدة أجيال قبل إعادة اختبارها للمقاومة وفى نهاية المطاف يجب تجديد النمو من تلك السلالة والحصول على نباتات مكتملة النمو منها (عن Duncan & Widholm ١٩٨٦)

التطبيقات العملية للاستفادة من تباينات المزارع

إن من أهم ما يميز تباينات المزارع — بالنسبة لتحسين وتربية النبات — أنها يمكن أن تظهر فى مزارع أفضل الأصناف التجارية وسلالات التربية؛ فلا يحتاج الأمر إلى جهد إضافى يذكر فى تطويرها لتصبح أصنافًا جديدة.

هذا . إلاّ أن تباينات المزارع — مثلها كأى طفرات يجدها المربى — قد لا تكون دائمًا مفيدة أو إيجابية، وقد تكون مفيدة ولكنها تكون مصاحبة بتغيرات أخرى ضارة. كما أنها قد لا تكون بالضرورة جديدة تمامًا.

وعلى الرغم من أن بعض الطفرات تكون ثابتة وراثيًا (genetic)، إلاّ أن بعضها الآخر لا يورث non-heritable (أو epigenetic) ويظهر فقط تحت تأثير بيئة الزراعة، كما أن

قسما ثالثًا من تلك التغيرات يكون وراثى إلاّ أن التباينات الحادثة تعود تدريجيًا إلى حالتها العادية بعد التلقيح الذاتى أو التهجين، وهو أمر يحدث عندما يكون مرد التباينات إلى حدوث تغير مؤقت فى التعبير الجينى (عن Karp ١٩٩٥)

وقد كانت بداية اكتشاف تباينات المزارع فى مزارع خلايا قصب السكر فى عام ١٩٦٩، حيث ظهرت تباينات كثيرة بين الخلايا فى أعداد الكروموسومات، وبين النباتات المتكونة منها فى مورفولوجى الكروموسومات وفى النشاط الإنزيمى، وكانت بعض النباتات الناتجة أكثر إنتاجًا للخلفات، وأبطأ نموًا، وأشد اعتدالاً فى نموها الرأسى

هذا .. ويستفاد من تباينات المزارع فى جوانب التربية التالية:

١ — زيادة التباين الوراثى فى الصفات الزراعية والبستانية المرغوب فيها:

لقد تم التعرف على عديد من التباينات المرغوب فيها فى عديد من الأنواع النباتية الهامة (جدول ٥—٢) وبدلاً من محاولة الحصول على تلك التباينات فى أى تركيب وراثى، ثم محاولة نقلها — بطرق التربية العادية — إلى صنف مرغوب فيه، فإنه من الأفضل استعمال تلك الأصناف مباشرة فى مزارع الأنسجة فى محاولة للحصول على التباينات المطلوبة فيها مباشرة وعلى سبيل المثال .. أمكن عند تقييم أكثر من ١٠٠٠٠ سلالة خضرية من صنف البطاطس رصت بربانك الحصول على تباينات ثابتة وراثيًا فى صفات اندماج النمو وطبيعته، وموعد اكتمال النمو، وتجانس النمو الدرنى، ولون جلد الدرنة، كما أظهرت أربع سلالات من ٥٠٠ مقاومة للفطر *Alternaria solani* تحت ظروف الحقل، وكانت ٢٠ سلالة من ٨٠٠ مقاومة للفطر *Phytophthora infestans* حمل بعضها مقاومة لعدة سلالات من الفطر

٢ — إجراء الانتخاب فى مزارع الأنسجة ذاتها

يمكن إجراء الانتخاب للصفات المرغوب فيها فى المزارع بيسر وسهولة وكفاءة عالية، خاصة عندما يوجد ارتباط عالٍ بين الاستجابة على المستوى الخلوى ومستوى النبات الكامل النمو.

جدول (٥-٢): أمثلة لحالات تباينات مزارع مرغوب فيها ظهرت فى بعض المحاصيل الزراعية (Brar & Jain ١٩٩٨).

المحصول	الصفة	الجيرمبلازم أو الصنف المنتج
قصب السكر	المقاومة لمرض فيجى، والبياض الزغبى	
البطاطس	المقاومة للفطر *Fusarium oxysporum*	
	المقاومة للفطر *Phytophthora infestans*	
البطاطا	جلد أكثر دكنة	Scarlet
الذرة	المقاومة للفطر *Helminthosporium*	
التبغ	المقاومة لمبيدات الحشائش	
	المقاومة لفيرس Y البطاطس	NC744
القمح	المقاومة للفطر *Helminthosporium*	
	تحمل الحرارة والجفاف	
	المقاومة لفيرس تقزم الشعير الأصفر	TC5, TC6, TC9
	تحمل الملوحة	
الأرز	محتوى الليسين	
	المقاومة للعصفة blast	
	التقزم، والمقاومة للرقاد، وزيادة المحصول بنسبة ١٠٪	Hatsuyme
	تحمل الملوحة	
السورجم	تحمل pH التربة المنخفض	
الطماطم	المحتوى المرتفع من المواد الصلبة	DNAP9
	المقاومة للسلالة رقم ٢ من الـ *Fusarium*	DNAP17
الكرفس	المقاومة للذبول الفيوزارى	UC-T3
الـ Brassica	المقاومة لمبيدات الحشائش	
	تحمل الملوحة	
الفلفل	انخفاض أعداد البذور بالثمار	Bell Sweet
بسلة الزهور	انخفاض محتوى الـ neurotoxin	

٣ — الاستفادة من ازدياد معدل حدوث الكسور الكروموسومية وإعادة التحامها، وما يترتب عليها من حالات نقص وإضافة وانتقالات وانقلابات كروموسومية فى المزارع ..

الاستفادة من ذلك فى زيادة فرصة نجاح التلقيحات البعيدة، أو على الأقل نقل الجينات المرغوب فيها من الأنواع البرية البعيدة إلى الأنواع المزروعة؛ نتيجة لاحتمالات زيادة فرصة حالات التبادل الكروموسومى بينها بعد حدوث تلك التحورات الكروموسومية فيها، وخاصة عند زراعة الأجنة غير المكتملة النمو للتهجينات البعيدة، حيث لا تستطيع كروموسومات النوع المحصولى والنوع الآخر إتمام عملية الانقسام الاختزالى (عن Brar & Jain ١٩٩٨، و Chawla ٢٠٠٠).

هذا ونقدم – فيما يلى – عرضًا تفصيليًا لمختلف أوجه التطبيقات العملية للاستفادة من تباينات المزارع

إنتاج الأصناف الجديدة

لا شك أن إنتاج أصناف جديدة محسنة هو الهدف الأساسى لجميع برامج التربية، ولقد أمكن الحصول على تباينات من المزارع كانت جديدة تمامًا، بحيث أنها شكلت أصنافًا جديدة من المحاصيل التى ظهرت فيها، دونما حاجة إلى إجراء برامج تربية خاصة بتلك الصفات الجديدة التى ظهرت – تلقائيًا – فى مزارع لأصناف محصولية محسنة.

ومن أمثلة الأصناف التجارية التى طورت بتلك الطريقة، ما يلى (عن Skirvin وآخرين ١٩٩٤، و Chahal & Gosal ٢٠٠٢):

النوع النباتى	الأصناف
Hemerocallis	Yellow Tinkerbell
Paulownia tomentosa	Somaclonal Snowstorm
Pelargonium	Velvet Rose
Torenia	UConn White
Citronella java	B-13

ونعرض – فيما يلي – لقائمتين إضافيتين من قوائم الأصناف الجديدة التي طورت من تباينات المزارع:

١ – قائمة Veilleux & Johnson (١٩٩٨):

المحصول	الصنف	الصفات المميزة
الكرفس	MSU-SHK5	المقاومة للفيوزاريم
	UC-TC	المقاومة للفيوزاريم
البطاطس	White Baron	لا تتلون الدرنات باللون البنى بعد تقشيرها، الدرنات بيضاوية الشكل، والعيون سطحية
البطاطا	Scarlet	الجذور حمراء قاتمة اللون من الخارج
البلاكيرى	Everthornless	الثمار أقل حموضة،والنبات عديم الأشواك
Daylily	Yellow Tinkerbell	التقزم، والنورة القصيرة، والعقم الذكرى
الجيرانيم	Velvet Rose	الخصوبة، والأوراق السميكة المسننة والنمو القائم
الـ Torenia	UConn White	الأزهار البيضاء، والنمو المندمج
الأرز	LSBR-5 & LSBR-33	المقاومة للرايزكتونيا

٢ – قائمة Jain (٢٠٠١):

المحصول	الصنف	الصفات المميزة
Rubus	Lincoln Logan	
الموز	صنف جديد	المقاومة للذبول الفيوزارى
القمح	He Zu No. 8	المحصول العالى
Lathyrus sativus	P-24	انخفاض الـ neurotoxin فى البذور – المحصول العالى – النضج المبكر
البطاطس	White Baron	عدم التلون البنى
الذرة	Yidan No. 6	لاستعمال الحبوب وكعلف
البلاكبرى	Lincoln Logan	انعدام الأشواك
الكتان	ANDRO	تحمل الملوحة والحرارة
الكرفس	UC-TC	مقاومة الذبول الفيوزارى
	MSU-SHK5	مقاومة الذبول الفيوزارى
	K-26, K-108, K-128	مقاومة كلا من الذبول الفيوزارى، و *Spodoptera exigua*
الطماطم	DNAP-17	مقاومة الذبول الفيوزارى
	DNAP-9	ارتفاع محتوى الثمار من المادة الصلبة

الحصول	الصنف	الصفات المميزة
Brassica juncea	Pusa Jai Kisan	المحصول العالى – المقاومة لانتثار البذور
Cymbopogon	CIMPA/Bio-13	٥٠–٦٠٪ زيادة فى الزيت الأساسى العطرى
الفلفل	Bell Sweet	الثمار صفراء اللون
	A-D4	تبكير النضج وارتفاع المحصول
البطاطا	Scarlet	
الأرز	DAMA	مقاومة فطر *Picularia* – جودة الصفات الأكلية
	FR13A	تحمل الغمر بالماء
	LSBR-4, LSBR-33	المقاومة للرايركتونيا
	Hasuyume	

ومن بين تباينات المزارع الأخرى التى وجدت طريقها كأصناف تجارية جديدة طفرة طماطم مختلفة فى اللون والمذاق، والقوام، والقدرة على التخزين. كما ظهرت أصناف من الذرة مقاومة لمبيد الحشائش imidazolinone. ولعل سلالة بسلة الزهور *Lathyrus sativus* – التى ظهرت كطفرة فى مزارع الأنسجة – والتى لا يتراكم الـ neurotoxin ببذورها (٠٣ ٠٪ مقارنة بـ ٣ ٠٪ فى الأصناف العادية) لعل تلك السلالة تجعل من الممكن زراعة هذا النبات كمحصول بقول باعتبار قدرته الفائقة على تحمل الظروف لبيئية القاسية (عن Larkin ١٩٩٨)

الحصول على تباينات جديدة يمكن أن تفيد فى برامج التربية

إن أنواع التباينات الجديدة التى تزهر فى مزارع الأنسجة كثيرة جدًا، كما يتبين من المناقشة التالية

أمثلة متنوعة

من الأمثلة على التباينات الجديدة التى تظهر فى مزارع الأنسجة، ما يلى:

الحصول	التباينات
الأرز	عدد الخلفات – حجم النورة – موعد التزهير – طول النبات – موعد تكوين الرؤوس – شكل الورقة – لون الورقة – حالات عقم

المحصول	التباينات
الذرة	المقاومة للجلايفوسيت
القمح	لون الحبة – الطول – عدد الخلفات – بروتين الحبوب
الشعير	محصول الحبوب – شكل الورقة – وزن ١٠٠٠ حبة – طول النبات – مقاومة الرقاد
فول الصويا	طول النبات – مقاومة الرقاد – موعد النضج – المحتوى البروتينى ومحتوى الدهون بالبذور
قصب السكر	المحصول – محتوى السكر – المقاومة للأمراض
الطماطم	لون الفلقات البنفسجى – النمو القزمى – الإزهار المبكر – لون الثمار البرتقالى
الجزر	المحتوى الأعلى من الكاروتين
البطاطس	المحصول – موعد النضج

ونقدم فى جداول (٥–٣)، و (٥–٤)، و(٥–٥) قوائم أخرى تضم مزيدًا من الأمثلة على تباينات المزارع.

عوامل عدم التوافق

بينما لم يمكن أبدًا – وبعد محاولات موسعة – الحصول على آليل جديد من آليلات عدم التوافق (S alleles) فى الجنس *Lycopersicon* بالمعاملة بالعوامل المطفرة .. فإنه أمكن التعرف على عدد من آليلات S الجديدة فى عدد محدود من السلالات الجسمية somaclones التى حُصل عليها من مزارع المتوك فى *L. peruvianum*، وثبت أن تلك الآليلات كانت ثابتة وراثيًا وبسيطة فى وراثتها (عن Larkin ١٩٩٨).

الأحماض الأمينية

أمكن استحداث تباينات وراثية غنية بالأحماض الأمينية الضرورية بمزارع أنسجة مختلف محاصيل الحبوب، وكانت إحدى الوسائل لتحقيق ذلك الهدف هو بتزويد بيئة مزرعة الأنسجة بنظير مماثل analog لكل واحد من الأحماض الأمينية التى يُرغب فى زيادة تركيزها. يوفر النظير ضغطًا انتخابيًا يكفى لعزل سلالات خلايا مقاومة من عشيرة

الخلايا الأصلية، وهى التى تستمر فى البقاء والتكاثر فى المزرعة من خلال الإنتاج الزائد للحامض الأمينى المرغوب المعنى. ونظريًا فإن النباتات التى يتجدد نموها من سلالة الخلايا المقاومة لنظير الحامض الأمينى يجب أن تحتوى — كذلك — على تركيز مرتفع من ذلك الحامض

جدول (٥-٣) أمثلة لبعض حالات تباينات المزارع التى انتقلت إلى النسل وبقيت ثابتة وراثيًا (عن Brar & Jain ١٩٩٨)

المحصول	الصفة	وسيلة الانتقال إلى النسل
التبغ	المقاوم للسم methionine sulfoximine	جنسيًا
	المقاومة للبكتيريا *Pseudomonas syringae*	جنسيًا
	تحمل مبيدا الحشائش sulfometoron methyl، و chlorsulfuron	جنسيًا
الذرة	المقاومة للسلالة T من الفطر *Helminthosporium maydis*	أميًا
الطماطم	المقاومة للفطر *Fusarium oxysporum*	جنسيًا
	لون الثمار	جنسيًا
	المقاومة لفيروس موزايك التبغ	جنسيًا
القمح	الشمع (انخفاض)، والسفا، ولون القنبعة، والبروتين جلايدين gliadin	جنسيًا
	المقاومة للفطر *Helminthosporium sativum*	جنسيًا
الأرز	المقاومة للبكتيريا *Xanthomonas oryzae*	جنسيًا
Brassica	المقاومة للفطر *Phoma lingam*	جنسيًا
البرسيم الحجازى	المقاومة للفطر *Fusarium oxysporum*	جنسيًا
قصب السكر	المقاومة لمرض فيجى Fiji disease	خضريًا
	المقاومة للفطر *Helmnosporium sacchari*	خضريًا
البطاطس	المقاومة للفطر *Alternaria solani*	خضريًا
	المقاومة للفطر *Phytophthora infestans*	خضريًا

جدول (٥-٤): قائمة ببعض التباينات التى وجدت فى مزارع الأنسجة والخلايا لبعض الأنواع النباتية (عن Veilleux & Johnson ١٩٩٨).

النبات	نوع المزرعة	نوع التباين
		نباتات الخضر
الأسبرجس	بروتوبلاست	القاومة للفيوزاريم
الجزر	الأجنة الجسمية	زيادة فى المحتوى الكاروتنيى
الكرفس	كالس ومعلق خلايا	القاومة للفيوزاريم
الخيار	الأجنة الجسمية	تضاعف رباعى
	كالس	عقم ذكرى، وطبيعة النمو، ولون لُب الثمرة
البسلة	كالس وأجنة جسمية	صفات بستانية متنوعة
البطاطس	كالس	تباينات فى الـ RFLP banding
	بروتوبلاست	تغيرات مورفولوجية وتحورات فى بروتين الدرنات
	بروتوبلاست	عدم انتظام الانقسام الميوزى، والعقم الذكرى
	كالس	تضاعف
	بروتوبلاست	تغير فى القابلية للإصابة بالعفن الطرى، ونقص المحصول، وتحسن فى الخصائص التصنيعية
	كالس	القاومة للفطر *Verticillium dahliae*
	كالس	زيادة القاومة لنطاطات الأوراق
	بروتوبلاست	زيادة التحمل للعفن الطرى
	بروتوبلاست	تضاعف تام وغير تام
	كالس	تغيرات فى مكونات البروتين
الطماطم	تجديد النمو من الأوراق	تقييد حركة الفيرس
	تجديد النمو من الأوراق	تضاعف، وطفرات عاملية
	كالس	القاومة للبكتيريا *Clavibacter*
		نباتات الفاكهة
التفاح	الأوراق (أقراص ورقية)	القدرة على التجذير والقاومة للبكتيريا *Erwinia amylovora*
الموز	إكثار دقيق	تباينات مورفولوجية، وتقزم
الفراولة	مزارع اليرستيم والكالس	عدم انتظام الإزهار، وتغيرات فى طبيعة النمو

تابع جدول (٥-٤)

النبات	نوع المزرعة	نوع التباين
البلاكبرى	إكثار دقيق	تباينات فى طبيعة النمو، وقوة النمو، والخصوبة
Citrus sinensis	أجنة جسمية	تحسن فى لون العصير، وتضاعف رباعى، وانعدام الأشواك، والنضج المبكر
العنب	أجنة جسمية	تضاعف رباعى، وتغيرات فى طبيعة النمو، واختلافات فى فترة الحداثة، والمقاومة للأمراض
	النباتات العطرية	
النعناع اليابانى	كالس	تباينات فى الصفات البستانية
	الزهور ونباتات الزينة	
African violet	براعم عرضية من الأوراق	تباينات مورفولوجية ورقية
	بروتوبلاست	تضاعف رباعى، وتباينات ورقية وفى لون الأزهار
البيجونيا	كالس	تباينات مورفولوجية
البيتونيا	بروتوبلاست	تضاعف
الورد	كالس	تباينات مورفولوجية
Torenia	كالس	المقاومة للعنكبوت الأحمر والدبابة البيضاء
	المحاصيل الحقلية	
البرسيم الحجازى	كالس	نقص المحصول، وطول الساق، وعدد العقد
قرن الغزال	بروتوبلاست	ضعف الخصوبة، وتضاعف وضعف الصفات المحصولية
Birdsfoot trefoil		
العكرش Fescue	كالس ومعلق خلايا	عقم حبوب اللقاح
الذرة	كالس	تباينات فى الصفات المحصولية معظمها رديئة
	كالس	طفرات عاملية
الشوفان oat	كالس	تباينات فى الصفات المحصولية
الأرز	بروتوبلاست	تأخير فى الإزهار، ونقص فى طول ورقة العلم
	كالس	تحسن فى تحمل الجفاف
الجودار rye	كالس	تباينات مورفولوجية، وتضاعف
السورجم sorghum	معلق خلايا	تباينات فى جينوم الميتوكوندريا
فول الصويا	كالس	تباينات مورفولوجية

تابع جدول (٥-٤):

النبات	نوع المزرعة	نوع التباين
	أجنة جسمية	تباينات فى عشر صفات كمية، وفى الأيزوزيمات
	تجديد نمو من العقدة الفلقية	عقم ذكرى وأنثوى
بنجر السكر	كالس	تحمل الأشعة فوق البنفسجية
دوار الشمس	مزارع الفلقات	تباينات مورفولوجية، وطفرات عاملية، وتقزم
	كالس	زيادة فى تعبير الكيومارين coumarin
القمح	كالس	تباينات فى الدنا
	كالس	تباينات فى الصفات المحصولية
	أجنة جسمية	ضعف المحصول، وتباينات فى الصفات المحصولية
	كالس	تباينات فى جينوم الميتوكوندريا
	أجنة جسمية	سفا أطول، ونقص في وزن ١٠٠٠ حبة

جدول (٥-٥): قائمة ببعض الصفات التى أمكن الانتخاب لها فى مزارع الأنسجة (عن Bajaj ١٩٩٠، و Jain ٢٠٠١).

المحصول	الصفات المنتخبة
	المقاومة لمبيدات الحشائش
القمح	atrazine، و difenzoquat، و picloram
التبغ	atrazine، و amitrole، و paraquat، و chlorsulfuron
الكرنبيات	atrazine، و phenmedipham
الذرة	glyphosate
الشعير	glyphosate
بنجر السكر	chlorsulfuron
	المقاومة للأمراض
الطماطم	*Clavibacter michiganense*، و *Fusarium lycopersici* (وحامض الفيوزاريك)، و *phytophthora infestans*، و *Alternaria solani*، و *Alternaria alternata*، و *Pseudomonas syringae*

تابع جدول (٥-٥)

المحصول	الصفات المنتخبة
البطاطس	*Fusarium solani*
	F oxysporum، و *Phytophthora infestans*،
	و *Alternaria solani*، و potato leaf roll virus
الفراولة	*Phytophthora cactorum*، و *Rhizoctonia fragariae*،
	و *Botrytis cinerea*
الشعير	Fusarium spp
التفاح	*Phytophthora cactorum*
الترتكيل	Fusarium head blight
الذرة	*Helminthosporium maydis*
الأرز	*Xanthomonas oryzae*
القمح	*Helminthasporium sativum*، و *Septoria nodorum*
البرسيم الحجازى	*Fusarium oxysporum* f sp. *medicaginis*
قصب السكر	*Helminthosporium sacchari*
الخوخ	*Xanthomonas campestris* pv *pruni*، و *Pseudomonas*
	syringae
المانجو	*Colletotrichum gloeosporioides*، و *Fusarium*
	oxysporum f sp *cubense* وحامض الفيورايريك
	تحمل الظروف البيئية القاسية
الأرز، والذرة، والقمح	تحمل الألومنيوم
البرسيم الحجازى، والأرز، والقمح، والبطاطس، والكرنبيات، والتبغ، والطماطم	تحمل الملوحة
الأرز	تحمل الجفاف
القمح	تحمل الصقيع
الدرة، والأرز	تحمل البرودة
بنجر السكر	تحمل الـ UV-B
الكرنبيات	تحمل الزنك والمنجنيز

جدول (٥-٦): أمثلة لبعض التباينات التى ظهرت فى نباتات تجدد نموها من المزارع (عن Taji وآخرين ٢٠٠٢).

المحصول	التباين
القمح	المحصول العالى
Lathyrus sativus	انخفاض محتوى السم ODAP
البطاطس	انخفاض التلون البنى بعد التقشير
	المقاومة للفحة
الكتان	تحمل الملوحة والحرارة
الكرفس	مقاومة الذبول
	مقاومة الدودة الخضراء *Spodoptera exigua*
قصب السكر	مقاومة الفطر *Helminthosporium sacchari*
التبغ	مقاومة فيرس موزايك التبغ
الطماطم	مقامة الذبول الفيورارى
	ارتفاع محتوى المواد الصلبة الذائبة
الفلفل	الثمار الصفراء
	النضج المبكر
الأرز	تحمل الغمر بالماء
	مقاومة لفحة الأغماد

وبصفه الطريقة أمكن فى الذرة – على سبيل المثال – تحقيق ما يلى:

١ – باستعمال نظير التربتوفان 5-methyl-DL-tryptophan أمكن انتخاب كالس يحتوى على تربتوفان حر بتركيز يزيد بمقدار ١٣٣-١٦١ مرة عن التركيز الطبيعى.

٢ – وفى الكالس السابق ذاته ازداد – كذلك – تركيز الفينيل آلانين phenylalanine بمقدار ٢٢-٣٠ مرة عن التركيز العادى.

٣ – ازداد تركيز التربتوفان والفينيل آلانين فى أوراق النباتات التى تجدد نموها من ذلك الكالس بمقدار ٢٠٠٠، و ٣٢ مرة – على التوالى – عن التركيز فى النباتات العادية

ومن النظائر الأخرى التى استعملت النظير S-2-aminoethyl-L-cysteine (بهدف

زيادة تركيز الحامض الأميني lysine)، والنظير azetidine-2-carboxylic acid (بهدف زيادة تركيز الحامض الأميني برولين proline). وبينما قاومت التباينات الوراثية التي حصل عليها في الذرة النظير الأول بنقص امتصاصه، فإن تباينات أخرى قاومت النظير الثاني بزيادة إنتاج البرولين بنحو ٤٠ مرة عن الإنتاج الطبيعي (Giles وآخرون ١٩٩٣)

هذا . وبينما لا يتواجد الحامض الأميني الضروري ليسين lysine بتركيزات عالية في بروتينات مختلف محاصيل الحبوب، مثل: القمح، والذرة، والشعير، والأرز، والدُخن اللؤلؤي pearl millet، إلاّ أنه أمكن انتخاب سلالات خلايا من مزارع أنسجة تلك الحبوب كانت عالية المحتوى من الليسين، كما أمكن تجديد نمو نباتات كاملة منها احتفظت بالصفة التي تبين أنها كانت سائدة ويتحكم فيها إما جين واحد، وإما زوجان من الجينات في مختلف محاصيل الحبوب فيما عدا الأرز الذي كانت فيه صفة المحتوى المرتفع من الليسين متنحية (عن Taji وآخرين ٢٠٠٢)

مركبات الأيض الثانوية

بلغ العدد الكلي لمركبات الأيض الثانوية التي أمكن عزلها من مزارع الأنسجة والخلايا للنباتات الراقية — والتي ذكر عنها أنها "جديدة" ولم يسبق اكتشافها — ٣٢٢ مركبا، وذلك حتى عام ١٩٩٩ (تتوفر تفاصيلها في Grather & Schneider ٢٠٠١)، وكان هذا العدد يزيد بمقدار ٢٣٠ مركبا عما كان عليه الحال في عام ١٩٨٩؛ بمعنى حدوث تسارع كبير في أعداد المركبات الجديدة المكتشفة بمرور الوقت. حدث هذا في الوقت الذي لم تشمل فيه الدراسات إلاّ نحو ٤٨ عائلة نباتية فقط.

تُعد الغالبية العظمى لمركبات الأيض الثانوية من التربينات terpenoids (أكثر من ٢٠٠٠٠ مركب)، والألكالويدات alkaloids (حوالي ١٠٠٠٠)، والفينولات phenolics (حوالي ٨٠٠٠)، وقد توزعت المركبات الجديدة المكتشفة على تلك المجموعات الكيميائية؛ فكانت ١٠٠ منها من التربينات، و ٧٢ من الألكالويدات، و ١٤٤ من الفينولات؛ بينما كانت الستة مركبات المتبقية من مجموعات أخرى.

وقد توزعت غالبية المركبات الجديدة المكتشفة على عدد محدود من الأنواع النباتية،

فمثلا كان أكثر من ٥٠٪ من الألكالويدات (٣٧ مركب من ٧٢) من عائلة Apocynaceae وكانت كلها إندولية

وتحظى المركبات المضادة للإصابات السرطانية المتحصل عليها من *Catharanthus roseus* – مثل الـ vincristine والـ vinblastine – باهتمام كبير من الباحثين، حيث دُرست الأنواع الأخرى من نفس الجنس واستخدمت مزارع الخلايا فى عزل ١٢ مركبًا من الألكالويدات الإندولية وغيرها من المركبات المضادة للسرطان (عن Grather & Schneider ٢٠٠١)

الحصول على مصادر جديدة لمقاومة الأمراض

عند الانتخاب فى المزارع ذاتها لمقاومة الأمراض فإنه قد يمكن استخدام أى من الوسائل التالية فى عملية التقييم.

١ – المسبب المرضى ذاته

يجب أن يؤخذ فى الاعتبار عند استخدام المسبب المرضى ذاته فى عملية التقييم صعوبة التخلص منه فى النباتات التى يتجدد نموها من المزرعة، إلا فى حالات المناعة التامة للمسبب المرضى وقد اتبعت هذه الطريقة فى حالات قليلة تضمنت حالات مقاومة لفطريات وأخرى لفيروسات

ويتعين عند إجراء ذلك الاختبار مراعاة التجانس التام فى عملية الحقن بالمسبب المرضى

٢ راشح مزارع المسبب المرضى

يحتوى راشح مزارع المسبب المرضى على "كوكتيل" من المركبات التى تضم – إلى جانب سُم الفطر المسئول عن الأعراض التى تُحدثها الإصابة بالفطر – على نواتج أيضية أخرى عديدة للفطر، وأخرى من مكونات البيئة ذاتها وغنى عن البيان أن بعضا من تلك المركبات التى تختلط بسُمّ الفطر قد تكون سامة – هى الأخرى – للمزرعة التى يجرى تقييم خلاياها، الأمر الذى قد يؤدى إلى قتل تباينات كانت مقاومة أصلا لسُمّ الفطر

٣ – سُم الفطر المنقى جزئيًا:

يكون سُم الفطر المنقى جزئيًا أفضل فى الاستعمال كعامل انتخابى عن راشح مزرعة السبب المرضى، حيث يتم تجنب بعض المشاكل التى يسببها استخدام راشح المزرعة.

٤ – التحضير النقى لسُمّ السبب المرضى:

يفضل دائمًا استخدام التحضير النقى لسُمّ السبب المرضى فى عملية الانتخاب فى المزارع، وتعرف العديد من تلك السموم لعديد من الفطريات والبكتيريا (عن Remotti ١٩٩٨)

وبالنسبة للانتخاب لمقاومة الفيروسات .. أمكن الحصول على سلالة خلايا تبغ مقاومة لفيرس موزايك التبغ بزراعة خلايا مصابة بالفيرس فى بيئة صناعية، حيث أمكن عزل السلالة المقاومة والتى كانت تتميز بمعدل نموها العالى على الرغم من محتواها العالى من الفيرس. وقد أمكن تجديد نمو نباتات تبغ من ذلك الكالس كانت مقاومة للفيرس، وتبين أن صفة المقاومة كانت بسيطة وسائدة (عن Taji وآخرين ٢٠٠٢).

ولقد أمكن – عن طريق الانتخاب فى تباينات المزارع – الحصول على مصادر كثيرة جديدة لمقاومة الأمراض فى عديد من الأنواع المحصولية، نذكر أمثلة عليها فى الجداول أرقام (٥–٧) إلى (٥–١٣)، لكن تجدر الإشارة إلى أن ظهور تلك التباينات لا يقتصر على مزارع الأنسجة فقط، إذ إنها تظهر بصورة طبيعية – كذلك – فى النباتات الكاملة، حيث يمكن انتخابها كسلالات خضرية جسمية somaclones مقاومة للأمراض (جدول ٥–١٤)

جدول (٥-٧): أمثلة لحالات مقاومة للأمراض انتخبت فى المزارع (عن Remotti ١٩٨٩).

النبات	المسبب المرضى	العامل الانتخابى
الدُخن اللؤلؤى	*Claviceps fusiformis*	راشح مزرعة الفطر
البن	*Colletotrichum kahawae*	سُمٌّ منقى جزئيًا
الشعير	*Drechslera teres*	سُمٌّ منقى جزيئًا
الباذنجان	ميكوبلازما	المسبب المرضى ذاته
الحور	*Melampsora larici*	راشح مزرعة الفطر
الموز	*Mycosphaerella fijiensis*	راشح مزرعة الفطر، وكذلك سُمٌّ منقى جزئيًا
التفاح	*Phytophthora cactorum*	راشح مزرعة الفطر
الفراولة	*P cactorum*	راشح مزرعة الفطر
البطاطس	*P infestans*	سُمٌّ منقى جزئيًا، وراشح مزرعة الفطر
التبغ	*P parasitica* var *nicotianae*	راشح مزرعة الفطر
الليمون الأضاليا	*P. tracheiphila*	سُمٌّ منقى جزئيًا
Brassica	*Phoma lingam*	راشح مزرعة الفطر، مع الانتخاب فى النباتات التى يتجدد نموها
الفراولة	*Rhizoctonia fragariae*	الإنزيمات البكتينية
الكرفس	*Septoria apiicola*	راشح مزرعة الفطر
فول الصويا	*S. glycines*	راشح مزرعة الفطر
التبغ	فيرس موزايك التبغ	الفيرس ذاته
الطماطم	فيرس موزايك التبغ	الفيرس ذاته
البرسيم الحجازى	*Verticillium albo-atrum*	راشح مزرعة الفطر
حشيشة الدينار	*V. albo-atrum*	راشح مزرعة الفطر
الباذنجان	*V. dahliae*	راشح مزرعة الفطر
الخوخ	*Xanthomonas campestris* pv. pruni	راشح مزرعة البكتيريا

جدول (٥-٨): أمثلة لحالات مقاومة لكل من الـ *Alternaria*، و الـ *Helminthosporium*، والـ *Pseudomonas* حُصل عليها من خلال مزارع الأنسجة (عن Remotti ١٩٩٨)

النبات	المسبب	العامل الانتخابى
التبغ	*A. alternata* pv *tabaci*	سُمُّ الفطر (Al-toxin)
Brassica	*A. brassicicola*	سُمٌّ منقى جزئيًا مع الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
الجزر	*A. dauci*	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
البطاطس	*A. solani*	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
الطماطم	*A. solani*	راشح مزرعة الفطر
الذرة	*H. maydis*	سُمُّ الفطر (Hm-toxin) مع الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
الأرز	*H. oryzae*	سُمُّ الفطر (Ho-toxin) مع الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
قصب السكر	*H. sacchari*	سُمُّ الفطر (HS-toxin) مع الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
القمح	*H. sativum*	سُمٌّ منقى جزئيًا
الشعير	*H. sativum*	سُمٌّ منقى جزئيًا
الشوفان	*H. victoriae*	سُمُّ الفطر (HV-toxin)
الكرفس	*P. chichorii*	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
الأرز	*P. fuscovaginae*	سُمُّ البكتيريا (Syringotoxin)
الطماطم	*P. solanacearum*	راشح مزرعة الفطر، مع الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
التبغ	*P. syringae* pv *tabaci*	سُمٌّ منقى جزئيًا
	P. solanacearum	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
الفاصوليا	*P. syringae* pv phaseolicola	سُمُّ البكتيريا (Phaseolotoxin)
القمح	*P. syringae* pv syringae	سُم البكتيريا (Syringomycin)
الخوخ	*P. syringae* pv *syringae*	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها

جدول (٥-٩): أمثلة لحالات الانتخاب فى المزارع لمقاومة الفيوزاريم *Fusarium* spp. (عن Remotti ١٩٩٨).

النبات	المسبب المرضى والسلالة	العامل الانتخابى
القمح	*F. culmorum* and *F. graminearum*	السموم، والـ dedeoxynivalenol
الكرفس	*F. oxysporum* f. sp. *apii*	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
	F. oxysporum f. sp. *apii* R2	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
الأسبرجس	*F. oxysporum* f. sp. *asparagi*	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
	F. proliferatum	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
البطاطا	*F. oxysporum* f. sp. *batatas*	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
الخيار	*F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*	راشح مزرعة الفطر
الموز	*F. oxysporum* f. sp. *cubense* R4	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
	F. oxysporum f. sp. *cubense* R1	حامض الفيوزاريك
الجلاديولس	*F. oxysporum* f. sp. *gladioli*	حامض الفيوزاريك
الفراولة	*F. oxysporum* f. sp. *fragariae*	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
الطماطم	*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* R1	راشح مزرعة الفطر
	F. oxysporum f. sp. *lycopersici* R2	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
	F. oxysporum f. sp. *lycopersici* R3	حامض الفيوزاريك مع الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
	F. oxysporum f. sp. *radicis-lycopersici*	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
البرسيم الحجازى	*F. oxysporum* f. sp. *medicaginis*	راشح مزرعة الفطر
	F. oxysporum, *F. avenacearum* and *F. solani*	راشح مزرعة الفطر، مع الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
	F. oxysporum f. sp. *medicaginis*	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
التبغ	*F. oxysporum* f. sp. *nicotianae*	راشح مزرعة الفطر
البطاطس	*F. oxysporum* f. sp. *solani*	راشح مزرعة الفطر
الشعير	*Fusarium* spp.	حامض الفيوزاريك
فول الصويا	*F. solani*	راشح مزرعة الفطر

جدول (٥-١٠): أمثلة لحالات تباينات مزارع مقاومة للأمراض أمكن التعرف عليها بعد تجديد النمو الذاتي من تلك المزارع (عن Remotti ١٩٩٨).

النبات	المسبب المرضي والسلالة
الخس	*Bremia lactucae*
الكرفس	*Cercospora apii*
الحور	*Melampsora medusae*
البطاطس	*Phytophthora infestans*
قصب السكر	*Puccinia melanocephala*
القمح	*P. recondita*
الشعير	*Rhynchosporium secalis*
الكرفس	*Septoria apiicola*
الحور	*S. musiva*
الطرطوفة	*Sclerotinia sclerotiorum*
الدُخن اللؤلؤي	*Sclerospora graminicola*
قصب السكر	*S. sacchari*
البطاطس	*Streptomyces scabies*
قصب السكر	*Ustilago scitaminea*
البرسيم الحجازي	*Verticillium albo-atrum*
البطاطس	*V. dahliae*
قصب السكر	فيرس فيجي
البطاطس	فيرس واي البطاطس، وفيرس التفاف أوراق البطاطس، وفيرس إكس البطاطس
الطماطم	فيرس موزايك التبغ
الخس	فيرس موزايك الخس
الطماطم	*Clavibacter michiganense*
التفاح	*Erwinia amylovora*
الخوخ	*Xanthomonas campestris* pv. *pruni*
الجيرانيم	*Xanthomanas campestris* pv. *pelargonii*
الأرز	*X. oryzae*

جدول (٥-١١): قائمة بأنواع محصولية مقاومة للأمراض حُصل عليها بالانتخاب فى مزارع الأنسجة (Chawla ٢٠٠٠).

النبات	المسبب المرضى	وسيلة الانتخاب
زيت اللفت	*Phoua lingam, Alternaria brassicicola*	راشح المزرعة
الأرز	*Helminthosporium oryzae*	السُم ذاته
	Xanthomonas oryzae	الخلايا البكتيرية
الشعير	*Helminthosporium sativum*	السُم ذاته
	Fusarium spp.	حامض الفيوزاريك
الذرة	*Helminthosporium maydis*	السُم Hm
الشوفان	*Helminthosporium victoriae*	الفيكتورين
القمح	*Helminthosporium sativum, Fusarium graminearum*	السُم ذاته
	Pseudomonas syringae	Syringomycin
قصب السكر	*Helminthosporium sacchari*	السُم
التبغ	*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*	Methionine sulfoximine
	Alternaria alternata; P. syringae pv. *tabaci*	السُم
	Tobacco mosaic virus	الفيرس
	Fusarium oxysporum f. sp. *nicotianae*	راشح المزرعة
البطاطس	*Phytophthora infestans, Fusarium oxysporum*	راشح المزرعة
	Erwinia carotovora	البكتيريا
البرسيم الحجازى	*F. oxysporum* f sp. *medicagnis*	راشح المزرعة
الطماطم	Tobacco mosaic virus	الفيرس
	Pseudomonas solanacearum	راشح المزرعة
الباذنجان	*Verticillium dahliae*	راشح المزرعة
	Little leaf disease	الكائن المرض
الخوخ	*Xanthomonas campestris* pv. *pruni*	راشح المزرعة
الأفيون	*Verticillium albo-atrum*	راشح المزرعة
الكرفس	*Septoria apiicola*	راشح المزرعة

جدول (٥-١٢): قائمة جزئية ببعض النباتات الاقتصادية الهامة التى تم فيها انتخاب سلالات خلايا مقاومة لبعض الأمراض (عن Taji وآخرين ٢٠٠٢)

النبات	المسبب المرضى	السُم المستخدم فى الانتخاب
البرسيم الحجازى	*Colletotrichum* sp	راشح المزرعة الفطرية
المور	*Fusarium* sp.	حامض الفيوزاريك
البن	*Colletotrichum* sp.	راشح المزرعة الفطرية بعد تنقيته جزئيًا
الذرة	*Helminthosporium maydis*	T-toxin
الشوفان	*Helminthosporium victoriae*	Victorin
لفت الزيت	*Phoma lingam*	راشح المزرعة الفطرية
الخوخ	*Xanthomonas* sp	راشح المزرعة البكتيرية
البطاطس	*Phytophthora infestans*	راشح المزرعة الفطرية
الأرز	*Xanthomonas oryzae*	راشح المزرعة البكتيرية
قصب السكر	*Helminthosporium* sp.	راشح المزرعة الفطرية
	Helminthosporium sachari	HS toxin منقى جزئيًا
التبغ	*Pseudomonas tabaci*	Methionine sulfoximine
	Alternaria alternata	السم الفطرى بعد تنقيته جزئيًا

جدول (٥-١٣): أمثلة لحالات انتخاب لمقاومة أمراض فى مزارع الأنسجة (عن Jayasankar & Gray ٢٠٠٥)

المحصول		المسبب المرضى	وسيلة الانتخاب
البرسيم الحجازى	Alfalfa *Medicago sativa*	*Colletotrichum gloeosporioides*	راشح المزرعة
الأسبرجس	Asparagus *Asparagus officinalis* L	*Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi*	المسبب المرضى ذاته
الشعير	Barley *Avena sativa* L	*Helminthosporium sativum*	راشح مزارع منقى جزئيًا
الكرنب الصينى	Chinese cabbage *Brassica campestris* spp. *pekinensis*	*Erwinia carotovora*	راشح المزرعة + التعريض للأشعة فوق البنفسجية

تابع جدول (٥-١٣):

المحصول		المسبب المرضي	وسيلة الانتخاب
البن	Coffee *Coffea arabica* L.	*Colletotrichum kahawae*	راشح مزارع منقى جزئيًا
الباذنجان	Eggplant *Solanum melangena* L.	*Verticillium dahliae*	راشح المزرعة
العنب	*Grapevine* *Vitis vinifera* L.	*Elsinoe ampelina*	راشح المزرعة
		Colletotrichum gloeosporioides	راشح المزرعة
الذرة	Maize *Zea mays*	*Helminthosporium maydis*	السُمّ T (أو T-toxin)
المانجو	Mango *Mangifera indica*	*Colletotrichum gloeosporioides*	الفطر + راشح المزرعة
الخوخ	Peach *Prunus persica* L.	*Xanthomonas campestris* pv. *pruni*	راشح المزرعة
البطاطس	Potato *Solanum tuberosum*	*Phytophthora infestans*	راشح المزرعة
الأرز	Rice *Oryza sativa*	*Xanthomonas oryzae*	راشح المزرعة
الفراولة	*Strawberry* *Fragaria* sp.	*Fusarium oxysporum* f sp. *fragariae*	حامض الفيوزاريك
قصب السكر	Sugarcane *Saccharum officinarum* L.	*Helminthosporium sacchari*	راشح المزرعة
التبغ	Tobacco *Nicotiana tabaccum*	*Pseudomonas tabaci*	Methionine sulfoximine
الطماطم	Tomato *Lycopersicon esculentum* Mill	*Fusarium oxysporum*	حامض الفيوزاريك

جدول (٥-١٤): قائمة بمحاصيل زراعية مقاومة للأمراض حُصل عليها بانتخاب سلالات خضرية جسمية عند مستوى النباتات الكاملة النمو، وليس فى مزارع الأنسجة (عن Chawla ٢٠٠٠)

المحصول	المسبب المرضى
محاصيل حقلية	
الشعير	*Rhynchosporium secalis*
الذرة	*Helminthosporium maydis*
الأرز	*Helminthosporium oryzae*
لفت الزيت	*Phoma lingam, Alternaria brassicicola*
قصب السكر	Fiji virus, *Sclerospora sacchari, Helminthosporium sacchari, Puccinia melanocephala*
محاصيل بستانية ومحاصيل أخرى	
البطاطس	*Alternaria solani, Phytophthora infestans*, Potato virus X & *Y*, *Streptomyces scabie, Verticillium dahliae*
التبغ	*Phytophthora parasitica*
الطماطم	*Fusarium oxysporum, Pseudomonas solanacearum*
البرسيم الحجازى	*Verticillium albo-atrum, Fusarium solani*
الكرفس	*F. oxysporum* f. sp. *apii, Septoria apii*
الخس	Lettuce mosaic virus
التفاح	*Phytophthora cactorum*
الفول	*F. oxysporum* f. sp. *cubense*
الخوخ	*Xanthomonas campestris* pv. *pruni, pseudomonas syringae* pv. *syringae*
الحور	*Septoria musiva, Melampsora medusae*

الحصول على مصادر جديدة لمقاومة الآفات

تتوفر – كذلك – أمثلة لحالات أمكن فيها الانتخاب لبعض الآفات الزراعية كالحشرات والنيماتودا فى مزارع الأنسجة، منها ما يلى:

١ – انتخاب كالس قمح مقاوم لنوع المن *Diuraphis noxia* بإضافة مستخلص الحشرة إلى مزرعة الكالس، وكانت النباتات التى تجدد نموها من ذلك الكالس ونسلها أكثر مقاومة عن الصنف الأصلى

٢ -- أمكن انتخاب سلالات مزارع كالس من الدُخن (السورجم) كانت مقاومة للـ flall armyworm (*Spodoptera frugiperda*)، دون أية إضافات للمزرعة؛ علمًا بأنه لم يكن يعرف عن السورجم مقاومة لتلك الحشرة من قبل.

٣ – انتخبت سلالات من الخوخ ذات مستوى عال من المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne incognita* (عن Remotti ١٩٩٨، و Taji وآخرين ٢٠٠٢)

الحصول على تباينات تتحمل الظروف البيئية القاسية

تفيد تباينات مزارع الأنسجة – كثيرًا – فى الحصول على مصادر لتحمل الظروف البيئية القاسية المختلفة؛ حيث يمكن الانتخاب لبعض عوامل الشد البيئى – مثل الملوحة، والجفاف، والحرارة العالية، والحرارة المنخفضة إلخ – فى مزارع الأنسجة بيسر وسهولة

أمثلة متنوعة

نقدم فى جدول (٥–١٥) أمثلة على بعض حالات تحمل الشدّ البيئى التى أمكن الانتخاب لها فى مزارع الأنسجة.

جدول (٥–١٥): أمثلة لحالات انتخاب فى مزارع الأنسجة لبعض ظروف الشدّ البيئى (عن Remotii ١٩٩٨).

النوع	طبيعة التحمل الذى تحقق من خلال مزارع الأنسجة
Sorghum bicolor	تحمل الأرض الحامضية
Daucus carota	تحمل الألومنيوم
Nicotiana plumbaginifolia	تحمل الألومنيوم
Oryza sativa	تحمل الألومنيوم
Solanum tuberosum	تحمل الألومنيوم
Datura innoxia	تحمل الكادميوم
Nicotiana tabacum	تحمل الكادميوم
Oryza sativa	تحمل الكادميوم
	تحمل الشدّ الرطوبى
Triticum durum	تحمل الشدّ الرطوبى
Triticum aestivum	تحمل الشدّ الرطوبى، وتحمل الحرارة العالية
Gossypium hirsutum	تحمل الحرارة العالية (٣٨م)
Cucumis melo	القدرة على الإنبات فى الحرارة المنخفضة (١٤م)

تابع جدول (٥-١٥).

النوع	طبيعة التحمل الذى تحقق من خلال مزارع الأنسجة
Linum usitatissimum	القدرة على الإنبات فى الحرارة المنخفضة (٥-٨م)
Medicago sativa	تحمل التجمد (-١٦م)
Onza sativa	تحمل البرودة (٥-١٠م)
Trifolium pretense	تحمل التجمد (-١٠م)
T aestivum	تحمل التجمد (-١٣م)
Zea mays	تحمل البرودة (٤م)
Beta vulgaris	تحمل الأشعة فوق البنفسجية UV B

الأساس الفسيولوجى لتحمل الظروف البيئية القياسية

يبدو أن الأساس الفسيولوجى لتحمل بعض الظروف البيئية القاسية يخضع لتحكم بعض الجينات المنظمة الرئيسية؛ نظرا لأن بعض سلالات الخلايا المقاومة المعزولة تظهر مقاومة لعديد من الظروف فمثلا نجد أن السلالات المقاومة للملوحة غالبا ما تكون مقاومة للجفاف كذلك فإن سلالة خلايا من قصب سكر مقاومة لتثبيط لنمو الذى يحدثه الـ hydroxyproline أظهرت تحملاً عاليًا للبوليثيلين جليكول (الدى يرفع الضغط الأسموزى لبيئة الزراعة)، والحرارة المنخفضة (عن Taji وآخرين ٢٠٠٢) كذلك وُصفَت سلالة من القمح انتخبت من مزرعة كالس عوملت بحامض الأبسيسك بأنها ذات قدرة عالية على تحمل ظروف الشدّ البيئى وقد كانت تلك السلالة غير حساسة لمستويات حامض الأبسيسك المنتج بواسطة النبات، سواء أكان ذلك فى مرحلة الباردة، أم النبات البالغ (عن Remotti ١٩٩٨)

هذا وتتراكم الـ Quaternary Ammonium Compounds (اختصارا QAC) — مثل الـ glycine betaine فى بعض الأنواع البكتيرية، والنباتات المحبة للملوحة، وفى عديد من النباتات العادية (خاصة من العائلتين الرمرامية والنجيلية) استجابة لأى من الشدّ الملحى أو الجفافى، ويزداد تراكمها فى الأنواع البرية المتحملة للملوحة، مثل *Medicago marina*، إلاّ أن تلك العلاقة لا تظهر بوضوح فى جميع الحالات

وأدت معاملة مزارع الأنسجة بحامض الأبسيسك إلى عزل سلالات من الخلايا مقاومة

للحامض من كل من القمح و *Nicotiana sylvestris*، وكانت تلك السلالات مقاومة لكل من الحرارة العالية والجفاف فى القمح ولكن ليس فى *N. sylvestris*.

وتلعب الأمينات المتعددة polyamines — كذلك — دورًا فى تحمل النباتات لمختلف ظروف الشدِّ البيئى، مثل البوتاسيوم، والشدِّ الملحى، والحرارة العالية. ومن أمثلة تلك الأمينات المتعددة ما يلى:

putrescine spermidine spermine

ويبدو أن تلك المركبات تلعب دورًا فى الحماية من الشدِّ الملحى بحفظ التوازن الكاتيونى — الأنيونى، وبالمحافظة على الأغشية الخلوية فى حالات التركيزات العالية من الملوحة فى الوسط الخارجى (عن Gulati & Jaiwal ١٩٩٣).

تحمل الملوحة

استخدمت تقنيات مزارع الأنسجة بنجاح فى الحصول على سلالات خلايا متحملة للملوحة فى عديد من الأنواع النباتية، مثل التبغ، والبرسيم الحجازى، والأرز، والذرة، والسورجم. وقد أدى اكتساب صفة القدرة على تحمل الملوحة فى سلالات الخلايا — فى كثير من الأحيان — إلى فقد تلك الخلايا لقدرتها على تجديد النمو، كما لم تكن النباتات — التى أمكن الحصول عليها أحيانًا — من سلالات الخلايا المتحملة للملوحة العالية .. لم تكن تلك النباتات متحملة للملوحة، ولم يحصل على تلك الصفة فى نباتات كاملة مع توريثها للنسل إلا فى حالات قليلة.

أمثلة على حالات تحمل الملوحة

نقدم فى جدول (٥-١٦) بعض الأمثلة على حالات تحمل الملوحة التى ظهرت كتباينات فى مزارع الأنسجة.

جدول (٥-١٦) أمثلة لحالات انتخاب لسلالات خلايا كانت قادرة على تحمل الملوحة فى مزارع الأنسجة، وأمكن تجديد نموها وظهرت الصفة فى النباتات الكاملة وانتقلت إلى أنسالها (عن Chawla ٢٠٠٠)

النوع المحصولى	الجزء النباتى المستخدم فى مزارع الأنسجة	الملح المستخدم والتركيز (جم/لتر)
الأرز	الكالس الجنينى	كلوريد الصوديوم (١٠، ٢٠)
	البذور المكتملة التكوين	كلوريد الصوديوم (١٥)
القمح	الجنين غير المكتمل التكوين	كلوريد الصوديوم (٢-٧)
	الجنين المكتمل التكوين	كلوريد الصوديوم (٥)
لفت الزيت	الفلقات	كلوريد الصوديوم (٧,٥-١٠)
	الأجنة الجسمية	كلوريد الصوديوم (حتى ١٢,٥)
	الأجنة الناتجة من الـ microspores	كلوريد الصوديوم (٦-٧)
Vigna radiata	الفلقات من بادرات النزارع	كلوريد الصوديوم (حتى ١٥٠ ملى مولار)
البرسيم الحجازى	الكالس الناتج من الأجنة غير المكتملة التكوين	كلوريد الصوديوم (١٠)
اتبع	البروتوبلاست الأحادى	كلوريد الصوديوم (١١,٧)
الكتان	الكالس	ملح كريبات (٢٦,٨)

ومن بين العائلات الأخرى التى انتخبت فيها تباينات مزارع متحملة للملوحة، ما يلى (عن Remotti ١٩٩٨):

النوع النباتى	معاملة الانتخاب
Beta vulgaris	٧,٦ جم/لتر أملاح
Brassica juncea	٥-٢٠ جم/لتر كلوريد صوديوم
Citrus sinensis	٢,٩٢ جم/لتر كلوريد صوديوم
Coleus blumei	٥,٢٥ جم/لتر كلوريد صوديوم
Colocasia esculenta	أملاح مختلفة
Hordeum vulgare	١٠ جم/لتر كلوريد صوديوم
Linum usitatissimum	٢,٥-٣٪ أملاح
Medicago sativa	١٠ جم/لتر كلوريد صوديوم
Nicotiana tabacum	٨,٨-٣٣,٤ جم/لتر كلوريد صوديوم

النوع النباتى	معاملة الانتخاب
Oryza sativa	١٠–٢٠ جم/لتر كلوريد صوديوم
Poncirus trifoliata	٥–١٠ جم/لتر كلوريد صوديوم
Sorgum bicolor	٥ جم/لتر كلوريد صوديوم

كذلك عزلت سلالات خلايا ذات قدرة أكبر على تحمل الملوحة من عديد من الأنواع النباتية (جدول ٥–١٧)، كما تبين ثبات صفة التحمل أثناء الانقسام الميتوزى فى عديد من الدراسات، والتى أمكن فى بعضها تجديد النمو بتكوين الأجنة أو النباتات ويجب أن نتذكر أن الافتراض الرئيسى فى هذه النوعية من الدراسات هو أن الأساس الفسيولوجى لصفة تحمل الملوحة يتشابه – جزئيًا على الأقل – على مستوى الخلوى مع نظيره فى النباتات الكاملة النمو.

إن أهم الاستنتاجات التى يمكن استخلاصها من جدول (٥-١٧) ما يلى:

١ – أظهر الانتخاب لتحمل الملوحة فى مزارع الخلايا (الكالس والمعلقات) فاعلية كبيرة فى كل من النباتات وحيدة الفلقة وذوات الفلقتين، والحولية والمعمرة، التى تنتمى لعائلات كثيرة متنوعة.

٢ – أضيف الملح فى معظم الحالات إلى نسيج كالس أو إلى معلقات خلايا سبق تحضيرها

٣ – اعتمد نجاح انتخاب سلالات خلايا متحملة للملوحة – غالبا – على التباينات التى تحدث طبيعيًا، ولم يكن تأثير استعمال العوامل المطفرة فى المزارع بذى أهمية كبيرة. هذا ويذكر بعض الباحثين أن كلوريد الصوديوم – فى حد ذاته – قد يحفز تكوين تباينات المزارع.

٤ – وجدت علاقة إيجابية بين زيادة إنتاج البرولين والقدرة على تحمل الملوحة فى بعض الأنواع

٥ – تفيد أقلمة المزارع على الضغط الأسموزى المرتفع باستعمال البوليثيلين جليكول أو المللى بيوز milibiose– قبل تعريضها لتركيزات عالية من الأملاح – يفيد ذلك فى زيادة فرصة عزل سلالات خلايا متحملة للملوحة

جدول (٥–١٧) تباينات المزارع المتحملة للملوحة، وظروف الزراعة، وتجديد النمو، وانتقال الصفة للنسل جنسيًا (عن Tal ١٩٩٠)

مسلسل	النوع	المزرعة[أ]	الملح أو الأملاح والتركيز (mM)[ب]	التعرض للملح OS: دفعة واحدة G: تدريجي	الثبات في بيئة خالية من الملح T: عدد النقلات G: عدد الأجيال	تجديد النمو (R_0)[جـ]	تحمل الـ R_0	الانتقال الجنسي
١	*Avena sativa*	كالس	١٧٠	G		+ (نباتات)		
٢	*Brassica napus*	كالس	١٧٦ (Na_2SO_4)	OS، و G		+(جذور)		
٣	*B. napus*	كالس	١٤٠ (Na_2SO_4)		(T ١٣)+			
٤	*Capsicum annuum*	كالس ومعلق	١٧١، و ٣٤٢	OS	(T ٣)+			
٥	*Pisum sativum*	كالس ومعلق	٤٢٧ (M)	G، و OS		+(جذور)		
٦	*Cicer arietinum*	كالس	١٠٠ (H)	OS	(T ٣)+			
٧	*Citrus sinensis*	كالس ومعلق	٢٠٠ (M)	G	(T ٣)+	+(أجنة) ونباتات		
٨	*C. aurantium*	كالس ومعلق	١٥٠ (M)	G	(T ٣) +	+(أجنة)		
٩	*Colocasia esculenta*	كالس ومعلق	ماء بحر تركيبي	G		+(نباتات)		
١٠	*Datura innoxia*	كالس (1n)	١٧١	OS	+(شهر واحد)	+(نباتات)	+(كالوس)	
١١	*Daucus carota*	كالس				+(نباتات)	+	
١٢	*D. carota*	كالس	ماء بحر تركيبي					
١٣	*D. carota*	معلق (1n)	DR ↔ SR	G				
١٤	*Glycine max*	1n	٦٤ ($NaNO_3$)					
١٥	*Ipomoea batatas*	معلق	١٧١	OS	(T ٣) +			
١٦	*Kickxia ramossima*	أنواع مختلفة	٢٤٠		(T ٣)+	+(نباتات)		
١٧	*Linum usitatissimum*		أملاح كبريتات	OS		+(نباتات)	+	+
١٨	*Lycopersicon esculentum*	معلق	DR → SR					
١٩	*L. esculentum*	فلقات	١٢٨	OS	+ (جموات)			
٢٠	*Medicago sativa*	كالس ومعلق	١٧١ (H)	OS		+(نباتات)		
٢١	*M. sativa*	معلق				+(نباتات)	–	
٢٢	*M. sativa*	كالس	٨٥، و ١٧١	G	(T ٤)+	+(نباتات)		

تابع جدول (٥-١٧):

مسلسل	النوع	المزرعة[أ]	الملح أو الأملاح والتركيز (mM)[ب]	التعرض للملح OS: دفعة واحدة G: تدريجى	الثبات فى بيئة خالية من الملح T: عدد النقلات G: عدد الأجيال	تجديد النمو (R_o)[جـ]	تحمل الـ R_o	الانتقال الجنسى
٢٣	*Nicotiana sylvestris*	معلق (In)	١٧١	G				
٢٤	*N. Sylvestris*	كالس ومعلق	١٧١، و ٣٤٢	OS	(T ٣)+			
٢٥	*N. tabacum*	معلق	(M)١٥٠	G		+(نباتات)	+	+
٢٦	*N. tabacum*	معلق وكالس	(SR→DR)١٣٠	G				
٢٧	*N. tabacum*	معلق	١٧١	G	(T واحد) -			
٢٨	*N. tabacum*	معلق	٦٠٠، و ٧٧٠	G				
٢٩	*N. tabacum*	معلق	٤٢٨	G	(G ١٠٠) +	+(نباتات)	+	+
٣٠	*N. tabacum*	معلق	٢٠٠، و ٥٠٠	G	(G ٢٤، و G ٥٦) +			
٣١	*N. tabacum*	كالس	(Na_2SO_4)٧٠	OS		+(نباتات)	+	+
٣٢	*N. tabacum*	معلق	Sjelenocystine، و Selenomethioinc					
٣٣	*Oryza sativa*	كالس ومعلق	٢٥٦، و ٣٤٢ (H)					
٣٤	*O. sativa*	كالس	ماء بحر	OS			+	+
٣٥	*Pennisetum americanum*	معلق جنينى	٢٠٠	G	(T ٧)+	+(أجنة)		
٣٦	*P. purpureum*	كالس جنينى	٢١٤، و ٣٤٢(H)	OS، و G	-	+ (نباتات)	-	
٣٧	*P. purpureum*					+ (نباتات)	+	
٣٨	*P. purpureum*	كالس	٣٤٢	OS	+	+ (نباتات)	+	
٣٩	*Saccharum*	معلق وكالس	٢٥٧(H)	G				
٤٠	*Solanum melongena*	كالس	١٧١ (H)	G	(٤شهور) +			
٤١	*S. tuberosum*	معلق(2n)	(M)					

تابع جدول (٥–١٧).

مسلسل	النوع	المزرعة[أ]	الملح أو الأملاح والتركيز[ب] (mM)	التعرض للملح OS: دفعة واحدة G: تدريجي	الثبات فى بيئة خالية من الملح T: عدد النقلات G: عدد الأجيال	تجديد النمو[جـ] (R_o)	تحمل الـ R_o	الانتقال الجنسى
٤٢	*S. tuberosum*	كالس ومعلق	(DR→SR)	G، و OS	(T٥)+			
٤٣	*Sorghum bicolor*	كالس	٨٦	OS		+ (نباتات)		؟+
٤٤	*Trticum aesativum*	كالس جنينى	١٠٣	G		+ (نباتات)		
٤٥	*Vitis rupensis*	كالس ومعلق	١٥٠	OS، و G	(T ٣)+	+ (أجنة)		
٤٦	Colt cherry	كالس وبروتوبلاست	٢٠٠(NaCl)، و KCl، و (Na_2SO_4)	OS		+ (نباتات)		
٤٧	*O. sativa*	كالس	٣٤٢ (M)	OS		+ (نباتات)		+

أ – الأنواع ١ إلى ٣٤: كونت كالس فى بيئة ملحية؛ النوع ٣: سلالات الخلايا التى أنتجت برولين بكثرة كانت أكثر تحملاً لكبريتات الصوديوم؛ النوع ٤١: سلالات الخلايا المقاومة للـ hydroxyproline أظهرت تحملا أكبر لكل من كلوريد الصوديوم والصقيع.

ب – كان الملح المستخدم هو NaCl إلا إذا ذكر خلاف ذلك. التركيز المشار إليه هو إما التركيز الوحيد الذى تم استعماله أو أعلى تركيز استعمل فى سلسلة من التركيزات. M تعنى معاملة لاستحداث الطفرات mutagenic treatment. SR→DR، و DR→SR تعنى أن الخلايا المتأقلمة على الملوحة عرضت لشد جفافى أو العكس. H تعنى استجابة الخلايا كانت مماثلة لاستجابة الأنواع المحبة للملوحة halophytic response.

جـ – النوع ٢٠: كانت النباتات متقزمة وضعيفة وبطيئة النمو؛ النوع ٢٢. الشكل المظهرى للنباتات غير طبيعى، مع عدم توازن كروموسومى وعقم؛ النوع ٢٦: شيخوخة وموت مبكرين؛ ٢٨: تباين فى القدرة على تحمل كلوريد الصوديوم بين أجزاء الجنين، و ٢٩ صفات كثيرة متغيرة، و ٣٤: ضعف الخصوبة وعدم ثبات صفة التحمل، والنوع ٤٣: فُقدت نباتات أثناء أقلمتها، وكان بعضها ألبنيو، وكانت الخضراء ضعيفة الخصوبة.

٦ — بناء على دراسات أجريت على مزارع خلايا التبغ فإن التركيز المعتدل من ملح الطعام (١٧١ ملل مولار) يؤدى إلى عزل سلالات متأقلمة على الملوحة تكون قادرة على العودة إلى حالتها الطبيعية بمجرد وقف التأثير الملحى؛ هذا . بينما يؤدى تعريض المزارع إلى تركيز عالٍ من نفس الملح (٤٢٨ ملل مولار) إلى عزل سلالات على درجة عالية من تحمل الملوحة نتيجة للجمع ما بين خاصيتى التأقلم (وهى التى تفقد بزوال المؤثر) وازدياد فى أعداد الخلايا المتحملة وراثيًّا للملوحة من بين تلك التى كانت متواجدة طبيعيًّا فى مزرعة الخلايا منذ البداية، وهى خاصية لا تفقد عند تجديد نمو الخلايا وزوال المؤثر

٧ — تضاربت آراء الباحثين بشأن كيفية تعريض مزارع الخلايا للتركيزات العالية من الأملاح أيكون مرة واحدة على صورة صدمة أسموزية، أم يجرى بصورة تدريجية؟ ولكن يعتقد بأن إعطاء المعاملة بالتركيز المرتفع مرة واحدة يزيد من نسبة الخلايا "المقاومة" على حساب الخلايا التى يحدث فيها "تأقلم" مؤقت

٨ — كان مقياس تحمل التركيزات العالية من الأملاح فى معظم الدراسات هو أعداد الخلايا أو وزنها الطازج أو الجاف خلال فترة زمنية معينة؛ نظرا لتأثر معدل النمو بمدى مقاومة الخلايا للملوحة أو تأقلمها عليها.

٩ — تُقاس خاصية ثبات القدرة على تحمل الملوحة بتجديد زراعة المزرعة عدة مرات فى بيئة خالية من الملح، ثم إعادة زراعتها فى وجود الملح. علمًا بأن هذا الاختبار يميز بسهولة بين خاصيتى "المقاومة" و "التأقلم"؛ نظرا لأن الأخيرة تفقد سريعا خلال فترة تجديد النمو فى غياب الملح.

١٠ — على الرغم من السهولة التى يتم بها عزل سلالات خلايا متحملة للملوحة العالية، فإن نسبة ما أمكن تجديد النمو منها قاربت من النصف، بينما لم تنتقل تلك الخاصية جنسيًّا — عن طريق البذور — سوى فى حالات قليلة فقط. ويعد السبب الرئيسى فى ذلك هو تردى نمو النباتات التى يتجدد نموها من تلك المزارع وانخفاض نسبة الخصوبة فيها وبينما يكون من الصعوبة بمكان الاحتفاظ بالنباتات التى تعانى من الاضطرابات الكروموسومية بما تسببه من مشاكل فى النمو والخصوبة، فإن كثيرًا من

حالات اضطرابات النمو الأخرى قد ترجع إلى أسباب تقنية تتعلق بالبيئات المستخدمة ومكوناتها وظروف عمليات تجديد النمو والأقلمة، وهى أمور يمكن – غالبًا – التحكم فيها (عن Tal ١٩٩٠).

هذا . ومازالت الجدوى الاقتصادية للنباتات المتحملة للملوحة المنتخبة من مزارع الأنسجة أمرًا مجهولاً، حيث لا يعرف على وجه التحديد الثمن الذى يدفعه النبات – فى صورة نقص فى معدل النمو – عندما يُصبح متحملاً للشد الملحى (عن Remotti ١٩٩٨)

طريقة معاملة المزارع بالأملاح للأجل الانتخاب لتحمل الملوحة

تتباين آراء الباحثين بشأن طريقة معاملة مزارع الأنسجة بالأملاح لأجل الانتخاب لتحمل الملوحة بين من يرى ضرورة إجراء المعاملة بالتركيز المطلوب (وهو الذى يكفى لقتل ٥٠–٩٥٪ من الخلايا) مرة واحدة، ومن يرى ضرورة الوصول لهذا التركيز بصورة تدريجية يدافع أصحاب الرأى القائل بضرورة تعريض المزرعة للتركيز الملحى العالى مرة واحدة بأن ذلك يسمح بقصر الانتخاب على الخلايا ذات القدرة العالية على تحمل الملوحة، بينما يعطى تعريض المزرعة لتركيزات متزايدة من الأملاح الفرصة للخلايا لأن تتأقلم على الملوحة العالية – وهو أمر يحدث بصورة طبيعية عند التعرض التدريجى لأى شد بيئى – وبذا فإن كثيرًا من الخلايا الحساسة أصلا للملوحة العالية قد يتم انتخابها على أنها متحملة هذا بينما يرى أصحاب الرأى الثانى أن التعرض الفجائى للتركيز العالى من الأملاح قد لا يعطى الخلايا ذات القدرة الوراثية العالية على تحمل الملوحة الفرصة لأن تهئ نفسها لتحمل تلك التركيزات الملحية العالية، فتموت قبل أن تُظهر تلك القدرة ولا شك أن ترجيح أحد الرأيين على الآخر يتطلب فهمًا أفضل لظاهرة التأقلم (عن Gulati وآخرين ١٩٩٧).

إن الانتخاب لتحمل الملوحة فى مزارع الأنسجة يؤدى – فى كثير من الأحيان – إلى حدوث تأقلم مؤقت للتركيزات العالية من الأملاح، حيث تكون الخلايا قادرة على تخزين الملح الزائد فى الفجوات العصارية، وتحتفظ بقدرتها على البقاء بتعديل الضغط

الأسموزى. ويؤدى هذا التأقلم إلى تقليل الانقسام الخلوى وزيادة مدته. وفى إحدى الدراسات حُصل على سلالات خلايا تبغ متحملة لتركيز ١٠ جم/لتر من كلوريد الصوديوم، ولكنها عادت إلى حالتها الطبيعية باختفاء حالة الشدّ الملحى. وبزيادة تركيز كلوريد الصوديوم إلى ٢٥جم/لتر حُصل على سلالات متحملة للملوحة وثابتة (Jain ٢٠٠١).

وتتأثر الاستجابة للشدّ الملحى فى مزارع الأنسجة بكل من العوامل التالية:

١ — نوع الملح المستخدم.
٢ — مدة التعرض للشدّ الملحى.
٣ — تركيب بيئة الزراعة.
٤ — الظروف البيئية التى تتعرض لها المزرعة.
٥ — مصدر الجزء النباتى المستخدم فى الزراعة (الـ explant)
٦ - تركيز المعلق الخلوى.
٧ — مرحلة النمو الزرعى.

وللتفاصيل المتعلقة بدور كل واحد من تلك العوامل . يراجع Gulati & Jaiwal (١٩٩٧)

مستوى التعبير عن تحمل الملوحة . التعبير على المستويين الخلوى والنبات الكامل

عند الانتخاب لتحمل الملوحة فى مزارع الأنسجة يجب أن تكون خاصية التحمل فى النباتات المكتملة النمو قائمة على أساس خلوى، أى أن تكون تلك الخاصية متماثلة على كل من المستويين: الخلوى والنبات الكامل، وهو أمر قد لا يتحقق فى كثير من الحالات، ولعل ذلك هو السبب فى أن الانتخاب لتحمل الملوحة فى مزارع الأنسجة لا يقود — غالبًا — إلى تحسين تلك الخاصية فى النباتات البالغة (Dracup ١٩٩٣)

وعندما يوجد ارتباط موجب بين تحمل مزارع الخلايا للملوحة وتحمل النبات الكامل، فإن ذلك يكون دليلاً على اعتماد كليهما على خاصية واحدة مشتركة تكون هى المسئولة عن تحمل الملوحة. ولكن عندما يكون الارتباط سالبًا — كأن يكون النبات الكامل

متحملاً للملوحة. بينما تكون الخلايا المفردة حساسة – فإن ذلك يكون دليلا على أن خاصية تحمل الملوحة تعتمد على انتظام الخلايا على صورة أنسجة والأنسجة على صورة أعضاء فى النبات الكامل

ومن الأمثلة التى حُصل فيها على مختلف حالات الارتباط بين تحمل الملوحة فى كل من النبات البالغ وسلالات الخلايا، ما يلى (عن Tal ١٩٩٠).

١ – الارتباط موجب

أ – النبات مُتحمل والخلايا متحملة : *Lycopersicon pennellii*، و *L. peruvianum*، والبنجر، والبرسيم الحجازى، ولفت الزيت.

ب – النبات حساس والخلايا حساسة: الطماطم، والفاصوليا، والشعير

٢ – الارتباط سالب

أ – النبات مُتحمل والخلايا حساسة : *L. pennellii*

ب – النبات حساس والخلايا متحملة: الفاصوليا، والأرز.

الأساس الفسيولوجى لتحمل الملوحة

بتراكم البرولين فى مزارع أنسجة كلا من النباتات العادية glycophytic، والنباتات المحبة للملوحة halophytic عندما تتعرض لتركيزات عالية من أى من كلوريد الصوديوم أو كبريتات الصوديوم. وتؤدى إضافة البرولين إلى بيئات زراعة الأنسجة المحتوية على تركيزات ملحية عالية إلى تحفيز نمو وبقاء الخلايا والأنسجة والنباتات الكاملة. ويستدل من ذلك على أن البرولين ربما يوفر الحماية للأنسجة النباتية من حالات الشدّ الملحى بالعمل كمركب خازن للنيتروجين، وكمحلول أسموزى، وكحام للإنزيمات والتركيب الخلوى ولذا فإن الطفرات التى تُنتج البرولين بوفرة ربما تكون أكثر تحملا للملوحة وقد أمكن عزل طفرات كهذه بتعريض الخلايا لنظائر البرولين proline analogues، التى تسبب تثبيطا لعمل الإنزيمات المنظمة لتمثيل البرولين. كما قد يُنتج البرولين بوفرة نتيجة لزيادة نشاط الإنزيمات المسئولة عند تمثيله، أو تثبيط الإنزيمات التى تعمل على تحلله

ولقد أمكن الحصول على قدر أكبر من المقاومة للملوحة العالية فى سلالات خلايا طفرية يتراكم فيها البرولين فى عديد من الأنواع النباتية، منها: الشعير، والجزر، والبطاطس، و *Nicotiana sylvestris*، و *Vigna radiata*، و *Arabidopsis thaliana*. ووجد أن سلالات القمح التى كانت مقاومة للهيدروكسى برولين hydroxyproline تراكم بها البرولين بتركيزات وصلت إلى ١٧ ضعف التركيز العادى وكانت متحملة للصقيع هذا إلاّ أن سلالات الأرز المقاومة للهيدروكسى برولين والتى تراكم فيها البرولين بتركيزات وصلت إلى ١٥–٣٠ ضعف التركيز العادى لم تكن متحملة للشدّ الناتج من أى من الملوحة، أو المانيتول، أو الـ PEG، أو الصقيع.

وقد انتخبت تباينات مزارع من *Brassica juncea* كانت ذات محتوى أعلى من البرولين الحر تحت ظروف الشدّ الملحى عن النباتات الأصلية، وكانت تلك الزيادة فى مستوى البرولين راجعة إلى زيادة فى نشاط الإنزيم pyrroline-5-carboxylate reductase الذى يحفز الخطوة الأخيرة فى مسار تمثيل البرولين

وعلى خلاف ما تقدم بيانه .. فإن السلالات المتحملة للملوحة من كل من *N sylvestris* والباذنجان لم يتراكم بها البرولين بدرجة أكبر عما فى السلالات غير المنتخبة، بما قد يعنى أن البرولين لا يلعب دورًا فى عملية الأقلمة على الشدّ الملحى (أو البيئى عمومًا)، وأنه ربما يكون مجرد مظهر من مظاهر الشدّ (عن Gulati & Jaiwal ١٩٩٧)

كذلك لوحظ فى بعض تباينات المزارع المتحملة للملوحة تراكمًا فى بروتين معين (٢٤ كيلودالتون) أطلق عليه اسم أوزموتين ١ (Osmotin-I)، وفى حالات أخرى كانت صفة التحمل مصاحبة بتغيرات إنزيمية، أو بتواجد تركيز عال من البرولين. كذلك وجدت حالات تتحمل الملوحة العالية نَشَطَت فيها جينات استبعاد الكلورين chlorine-excluder genes، وتواجدت فيها مركبات حامية من الضغط الأسموزى العالى (osmoprotectants) مثل الجليسين بيتين glycene-betaine (عن Remotti ١٩٩٨).

وللإطلاع على نتائج مزيد من الدراسات التى أجريت فى هذا المجال . يراجع — كذلك — Gulati & Jaiwal (١٩٩٧).

تحمل الحرارة المنخفضة

أظهرت الدراسات أن مستوى الأحماض الأمينية — وبخاصة البرولين -- يزداد أثناء عملية التأقلم على الحرارة المنخفضة، ولقد وجد ارتباط جوهرى عال بين مستوى البرولين وتحمل الصقيع فى تراكيب وراثية تمثل مدى واسعا من الأنواع النباتية وبالانتخاب فى مزارع الأنسجة لزيادة محتوى كل من البرولين والهيدروكسى برولين اللذان يرتبطان بتحمل الصقيع أمكن إنتاج سلالات خلايا من القمح تحمل صفه القدرة الوراثية على تحمل الصقيع (عن Chawla ٢٠٠٠)

ولقد أمكن الاستفادة من المعلمات الكيميائية الحيوية الخاصة بتراكم البرولين فى الانتخاب فى المزارع للقدرة على تحمل الصقيع وفى خدمة ذات الهدف أمكن انتخاب سلالات خلايا قادرة على تراكم البرولين بها بمعاملة المزارع بالهيدروكسى برولين hydroxyproline وفى الذرة .. أمكن عزل سلالات مزارع متحملة للبرودة ويتراكم فيها البرولين بمعاملة الكالس بكل من حامض الأبسيسك والمانيتول mannitol

كذلك أمكن الحصول على نباتات قمح متحملة للتجمد من نسيج كالس خضع لعملية التبريد الشديد إلى -١٩٦ دون معاملة بالمواد الحامية من أضرار تلك المعاملة (أى دون معاملته بالـ cryprotectants)، وقد انتقلت تلك الصفة إلى النباتات التى تجدد نموها من ذلك الكالس وإلى نسلها (عن Remotti ١٩٩٨)

تحمل الحرارة العالية

أمكن انتخاب نباتات قطن مقاومة للحرارة بمعاملة مزارع الكالس بحرارة عالية وصلت إلى ٤٥م، حيث تجدد نمو النباتات المقاومة من الخلايا التى تحملت المعاملة الحرارية، إلاّ أن كثرة حدوث المظاهر السيتولوجية غير الطبيعية فى تلك النباتات أحدثت خفضا شديدا فى خصوبتها (عن Remotti ١٩٩٨).

تحمل الجفاف

من الوسائل الفعالة فى الانتخاب لتحمل الجفاف إضافة البوليثيلين جليكول إلى بيئة

الزراعة، حيث يُحدث شدًّ أسموزيًا، مما يعمل فى صالح انتخاب الخلايا التى تتحمل ظروف الجفاف تحقق ذلك فى عدد من المحاصيل، من بينها الأرز والقمح (Remotti ١٩٩٨).

تحمل التركيزات العالية من الحديد والألومنيوم فى الأراضى الحامضية

يؤدى كثرة تيسر بعض العناصر — كالحديد والمنجنيز والألومنيوم — فى الأراضى الحامضية إلى تراكمها بتركيزات سامة للنباتات، وفى حالات كهذه .. يفيد الانتخاب فى مزارع الأنسجة فى الحصول على تباينات قادرة على تحمل التركيزات العالية من تلك العناصر. ولقد أمكن بالفعل انتخاب سلالات من عديد من الأنواع النباتية مقاومة للتركيزات العالية من الألومنيوم، من بينها: الطماطم، والأرز، والبطاطس، والجزر.

وفى حالة الجزر المتحمل للألومنيوم فإن خلايا الجزر تفرز حامض ستريك يعمل كعامل مخلبى لخفض تركيز أيون الألومنيوم فى بيئة الزراعة؛ ومن ثم فإنه تفقد سميتها هذا .. إلاّ أن امتصاص النبات لكميات كبيرة من تلك العناصر وحجزها فى المسافات التى بين الخلايا يمكن أن يشكل خطورة صحية على الإنسان والحيوانات التى تستهلك تلك النباتات (عن Remotti ١٩٩٨).

تحمل مبيدات الحشائش

تهدف شركات إنتاج مبيدات الحشائش — غالبًا — إلى تطوير أصناف محصولية مقاومة للمبيدات فى الوقت ذاته التى تُنتج فيه تلك المبيدات، وقد أثبت الانتخاب فى المزارع فاعلية كبيرة فى هذا الشأن؛ فقد ثبت عدم كفاية التباينات الطبيعية — فى غياب الشدّ الانتخابى — فى توفير المقاومة لمبيدات الحشائش وفى المقابل .. فإن المواد الفعالة التى توجد فى مبيدات الحشائش والتى تضاف إلى مزارع الأنسجة لا تعمل - فقط - كعوامل شدّ انتخابى، وإنما كذلك — وفى آن واحد - كعامل مطفر، حيث تؤدى إلى ظهور التباينات المرغوب فيها بنسبة تتراوح بين واحد فى كل ١٠ مليون إلى واحد فى كل مليون.

وبينما نجد من السهولة كثيرا انتخاب تباينات مزارع مقاومة لمبيدات الحشائش، فإن غالبية التباينات التى أنتجت بالفعل لم يتجدد نمو نباتى منها، ومن تلك التى تجدد نموها لم تصل المقاومة إلى أنسال النباتات المنتجة إلا فى حالات قليلة، بما يعنى عدم إمكان الاستفادة من تلك الصفة وعدم القدرة على دراسة وراثتها. وفى معظم الحالات التى درست كانت صفة المقاومة بسيطة وسائدة، أو ظهرت نتيجة لحدوث طفرات فى دنا الكلوروبلاستيدات الخضراء

وأحيانًا ظهرت مقاومة لأكثر من مبيد فى آن واحد، نتيجة لحدوث طفرة تؤثر فى فاعلية تلك المبيدات ومن الأمثلة على ذلك المقاومة التى حصل عليها فى الذرة لكل من الـ sulphonylurea والـ imidazolines نتيجة لحدوث انخفاض فى حساسية الإنزيم acetohydroxy acid synthase لكليهما. كذلك أظهر الجين HuR فى التبغ مقاومة لكل من الـ hydroxyurea، والـ picloram (عن Remotti ١٩٩٨)

أمثلة على تباينات مزارع متحملة لمبيدات الحشائش

يظهر فى جدول (٥-١٨) بعض الأمثلة لحالات تحمل مبيدات الحشائش التى أمكن الانتخاب لها فى مزارع الأنسجة وكانت ثابتة وراثيًا

من بين أهم الحالات التى أمكن فيها الحصول على سلالات نباتية مقاومة لمبيدات الحشائش بالانتخاب فى تباينات مزارع الأنسجة التبغ المقاوم لكل من الجلايفوسيت glyphosate، والسلفونيل يوريا sulfonylurea، والهيدروكسى يوريا hydroxyurea، والباراكوات paraquat، والبكلورام picloram، وكذلك الجزر المقاوم للجلايفوسيت

كما أمكن انتخاب سلالة كالس خلوية من الطماطم تحملت تركيزات من كلوريد الصوديوم وصلت إلى ١٠٠٠٠ جزء فى المليون وقد أظهرت تلك السلالة بعضًا من صفات النباتات المحبة للملوحة halophytes، والتى تمثلت فيما يلى

١ — النمو الأفضل للكالس فى البيئات التى احتوت على تركيز ٨٠٠٠ جزء فى المليون من كلوريد الصوديوم، مقارنة بالنمو فى البيئات التى احتوت على تركيز ٦٠٠٠ جزء فى المليون

٢ – احتفاظها بتركيزات عالية من البوتاسيوم فى وجود تركيزات عالية من الصوديوم.

٣ – تراكم البرولين فيها بتركيزات عالية فى جميع مستويات كلوريد الصوديوم، مقارنة بالسلالات الكالوسية الأخرى التى لم تنتخب لتحمل كلوريد الصوديوم (El-Bahr وآخرون ١٩٩٣).

جدول (٥–١٨): أمثلة لحالات انتخاب تباينات مزارع مقاومة لمبيدات الحشائش (عن **Remotti** ١٩٩٨)

النوع النباتى	مبيد الحشائش	وراثة المقاومة
Arabidopsis thaliana	Chlorsulfuron	بسيطة سائدة
Beta vulgaris	Chlorsulfuron	بسيطة سائدة
Brassica napus	Chlorsulfuron	سائدة جزئيًا
Glycene max	Atrazine	ليست بسيطة سائدة
Linum usitatissium	Chlorsulfuron	بسيطة سائدة
Lotus corniculatus	Chlorsulfuron	بسيطة سائدة
Lycopersicon esculentum	Paraquat	طفرات سائدة
Nicotiana tabacum	Picloram	بسيطة سائدة
	Hydroxyurea	بسيطة سائدة
	Chlorsulfuron	بسيطة سائدة
	Sulfometuron methyl	بسيطة سائدة
	Amitrole	ليست مندلية
	Atrazine	طفرات كلوروبلاستيدية
	Paraquat	سائدة
Oryza sativa	Bensulfuron methyl	طفرات متنحية
Solanum tuberosum	MCPA & OMNIDEL	—
Zea mays	Sethoxydim & haloxyfop	سائدة جزئيًا
	Imidazolinone	بسيطة سائدة
	Chlorsulfuron	بسيطة سائدة جزئيًا
	Glyphosate	—

ومن الحالات الأخرى التى انتخبت فيها سلالات خلايا مقاومة لمبيدات الحشائش. المقاومة للـ sulfonylurea فى الكتان ولفت الزيت، والمقاومة للـ imazaquin فى الذرة

وعلى الرغم من أن نقل جينات المقاومة لمبيدات الحشائش بطرق الهندسة الوراثية يعد أمرا ممكنًا وأكثر إحكاما، إلاّ أن الاعتراضات التى تواجه استعمال الكائنات المحولة وراثيًا تجعل اللجوء إلى الانتخاب لصفة المقاومة أمرًا مفضلاً . على الأقل فى الوقت الحالى (عن Taji وآخرين ٢٠٠٢)

ولقد أمكن عزل سلالة خلايا من الشيكوريا مقاومة لمبيد الحشائش chlorsulfuron، وذلك من مزرعة خلايا لم تُعَّرض لأية عوامل مطفرة،وقد وجد أن تلك الصفة بسيطة وشبه سائدة semi-dominant. وأوضحت الدارسات أن النباتات السائدة الأصيلة تتحمل المبيد بتركيزات تصل إلى ١٥٠٠-٢٠٠٠ ضعف التركيز الذى يمكن أن تتحمله النباتات الحساسة، بينما كانت تلك النسبة حوالى ٣٠٠ بالنسبة للنباتات الخليطة فى الصفة وقد تأكد أن النباتات الحاملة لتلك الصفة كانت مقاومة — كذلك - لسبعة مبيدات أخرى من الـ sulfonylureas، ومبيد من الـ imidazolinone؛ بما يعنى أن تلك المقاومة ترجع إلى طفرة فى الجين المتحكم فى إنزيم معين يتحكم فى فاعلية تلك المبيدات (Lavigne وآخرون ١٩٩٤).

طبيعة تحمل مبيدات الحشائش

إن الانتخاب لتحمل مبيدات الحشائش فى مزارع الأنسجة يعتمد على قدرة الخلايا المنتخبة لزيادة تعبيرها لجينات معينة تكون هى المسئولة عن تمثيل إنزيمات معينة؛ مثل إنزيم glutamine synthetase فى حالة مقاومة سلالات خلايا البرسيم الحجازى لمبيد الحشائش phosphinothricin ت

وتعتمد طبيعة المقاومة لمبيدات الحشائش على طبيعة فعل المبيد ذاته، وقد تحتوى تباينات المزارع المقاومة على تحويرات فى القدرة على نقل المبيد داخل النبات، أو فى إنزيمات معينة، أو فى القدرة على التخلص من سمية المبيد. وعندما يعمل المبيد على المستوى الخلوى، فإن الانتخاب فى المزارع يعنى استمرار المقاومة فى النباتات الكاملة

هذا ولا يمكن الاعتماد على مزارع الأنسجة فى الانتخاب لمقاومة المبيدات التى تتعارض مع نظام انتقال الإليكترونات فى عملية البناء الضوئى إلاّ إذا أظهر الكالس نشاطًا فى عملية البناء الضوئى. وفى المقابل .. يعد الانتخاب فى المزارع سهلاً وفعالا بالنسبة للمبيدات التى تؤثر فى إنزيمات معينة، مثل مبيدات الكلوروسلفورون chlorosulphuron التى تؤثر فى إنزيمات مثل الـ acetolactae synthase (عن Remotti ١٩٩٨)

مصادر إضافية

لمزيد من التفاصيل فى موضوع تباينات المزارع . يمكن الرجوع إلى المصادر التالية.

المرجع	الموضوع
Dix (١٩٨٠)	الانتخاب فى مزارع الأنسجة لتحمل الظروف القاسية
Earle & Gracen (١٩٨١)	الانتخاب فى مزارع الأنسجة لمقاومة الأمراض
Maliga وآخرون (١٩٨٢)	تباينات المزارع والاستفادة منها فى تحسين النباتات
Scowcroft (١٩٨٢)	تباينات المزارع كوسيلة لتحسين النباتات
Bright وآخرون (١٩٨٣)	التحسين فى الصفات المحصولية عن طريق تباينات المزارع
Carlson (١٩٨٤)	الانتخاب فى تباينات المزارع
Griesbach (١٩٨٤)	استخدامات مزارع الأنسجة فى مجال الدراسات الوراثية
Stavarek & Rains (١٩٨٤)	الانتخاب فى مزارع الأنسجة لتحمل الظروف البيئية القاسية
Ledoux (١٩٨٤)	تباينات مزارع الأنسجة
Duncan & Wdholm (١٩٨٦)	الانتخاب فى تباينات المزارع
Gulati & Jaiwal (١٩٩٧)	الانتخاب لتحمل الملوحة فى مزارع الأنسجة
Jain وآخرون (١٩٩٨)	تباينات المزارع التى تحدث بصورة طبيعية والمستحدثة فيها
Brar & Jain (١٩٩٨)	طبيعة تباينات المزارع وتطبيقاتها فى مجال تربية النبات
Gupta (١٩٩٨)	الأساس الكروموسومى لتباينات المزارع
Remotti (١٩٩٨)	تحسين الصفات المحصولية بالانتخاب للصفات المرغوب فيها فى المزارع ذاتها
Jain وآخرون (١٩٩٨)	تباينات المزارع فى المحاصيل الزراعية – عام
Ahlowwalia (١٩٩٨)	استحداث الطفرات فى مزارع أنسجة النباتات الخضرية التكاثر
Cassells (١٩٩٨)	استحداث الطفرات فى مزارع الأنسجة لمقاومة الأمراض
Henry (١٩٩٨)	التوصيف الجزيئى والكيميائى الحيوى لتباينات المزارع باستخدام تقنيات الدنا
Jayasankar (٢٠٠٥)	تباينات مزارع الأنسجة